

Année 1967

THÈSE

N°

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

676

(Diplôme d'État)

PAR

Camille Servais DUPONT

né le 13 Mai 1936 à Baie-Mahault

(GUADELOUPE)

Présentée et soutenue publiquement le

INSULINEMIE ET EXPLORATION

METABOLIQUE DU DIABETE

Contrainte diabétogène - Décompensation pancréatique

Coefficient d'efficacité endogène

Président : M. Henri BOUR, Professeur



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41544305_0015

Année 1967

THÈSE

N°

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(Diplôme d'État)

PAR

Camille Servais DUPONT

né le 13 Mai 1936 à Baie-Mahault

(GUADELOUPE)

Présentée et soutenue publiquement le

INSULINEMIE ET EXPLORATION

METABOLIQUE DU DIABETE

Contrainte diabétogène - Décompensation pancréatique

Coefficient d'efficacité endogène

Président : M. Henri BOUR, Professeur

PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. Alajouanine (T.), Bénard (H.), Bernard (E.), Binet (L.), Bulliard (H.), Cathala (J.), Chabrol (E.), Chailley-Bert (P.), Cheymol (J.), Debré (R.), Fey (B.), Galliard (H.), Gaudart d'Allaines (F. de), Gennes (L. de), Giroud (A.), Hazard (R.), Heuyer (G.), Laroche (G.), Lavier (G.), Lelong (M.), Lévy (M^{lle} J.), Lévy-Solal (E.), Lian (C.), Marchal (G.), Mathieu (P.), Monod (R.), Moreau (R.), Moulounguet (P.), Pasteur Vallery-Radot, Petit-Dutaillis (D.), Piédelièvre (R.), Quénu (J.), Renard (G.), Senèque (J.), Strohl (A.), Tanon (L.), Verne (J.).

DOYEN Georges BROUET.

1^{er} ASSESSEUR } Daniel BARGETON

2^e ASSESSEUR } Jean GOSSET

I. — PROFESSEURS

1^o CHAIRES DE SCIENCES FONDAMENTALES

a) Professeurs titulaires :

	MM.
Anatomie	DELMAS (A.)
—	HUARD (P.)
Anatomie et cytologie pathologiques	DELARUE (J.)
Anesthésiologie	VOURC'H (G.)
Bactériologie et virologie	TOURNIER (P.)
Biochimie médicale	JAYLE (M.-F.)
—	POLONOVSKI (J.)
—	DESGREZ (P.)
Biologie appliquée à l'Education physique et aux Sports	MALMEJAC (J.)
Biologie médicale	FAUVERT (R.)
Biophysique médicale	BUGNARD (L.)
—	DOGNON (A.)
—	DJOURNO (A.)
Cancérologie expérimentale	MATHÉ (G.)
Chimie pathologique	SCHAPIRA (G.)
Génétique fondamentale	LEJEUNE (J.)
Histoire de la médecine et de la chirurgie	COURY (Ch.)
Histologie et Embryologie	TUCHMANN-DUPLESSIS (H.)
—	COUJARD (R.)
Hygiène et médecine préventive	BOYER (J.)
Médecine du Travail	DESOILLE (H.)
Médecine légale, Droit médical et déontologie	DEROBERT (L.)
Microbiologie (Bactériologie et virologie)	FASQUELLE (R.)
Parasitologie	N...
Pathologie chirurgicale	LAURENCE (G.)
—	KUSS (R.)
—	VERNE (J.-M.)
Pathologie exotique	BRUMPT (L.-C.)
Pathologie expérimentale et comparée	MERKLEN (F.-P.)
Pathologie médicale	LAROCHE (Cl.)
—	BRICAIRE (H.)
—	PÉQUIGNOT (H.)
Pathologie respiratoire	TURIAF (J.)
Pathologie et thérapeutique générales	MAURICE (P.)
Pharmacologie	BOISSIER (J.-R.)
—	LECHAT (P.)
Physiologie	BARGETON (D.)
—	PARROT (J.)
Physiologie et pathologie obstétricales	LEPAGE (F.)
Radiologie médicale	DESGREZ (H.)

Technique chirurgicale et Chirurgie expérimentale	MM. N...
Thérapeutique	LAMOTTE (M.)
Thérapeutique appliquée	N...

b) Professeurs à titre personnel :

Anatomie	CABROL (Ch.)
Anatomie anthropologique	OLIVIER (G.)
Anatomie pathologique	NEZELOF (Ch.)
Bactériologie	BARBIER (P.)
Biochimie médicale	DREYFUS (J.-Cl.)
Biologie médicale	BOURLIÈRE (F.)
Parasitologie	LARIVIÈRE (M.)
Pathologie expérimentale	LOEPER (J.)
Physiologie	{ DEJOURS (P.) SCHERRER (J.) KELLERSHOHN (L.) GOUGEROT (L.) ROUCAYROL (J.-Cl.) TUBIANA (M.) FISCHGOLD (H.)
Physique médicale	
Radiologie médicale	

2° CHAIRES DE SCIENCES CLINIQUES

a) Professeurs titulaires :

	MM.
Clinique carcinologique	DENOIX P.
Clinique carcinologique chirurgicale (Necker)	REDON (H.)
Clinique cardiologique (Broussais)	SOULIÉ (P.)
— — (Boucicaut)	LENÈGRE (J.)
Cliniques chirurgicales	{ Beaujon LORTAT-JACOB (J.-L.)
	{ — BAUMANN (J.)
	{ Cochin LEGER (L.)
	{ Hôtel-Dieu PATEL (J.)
	{ Saint-Antoine GOSSET (J.)
	{ Salpêtrière SICARD (A.)
	Tenon OLIVIER (Cl.)
Clinique chirurgicale orthopédique et traumatologique (Cochin)	MERLE d'AUBIGNÉ (R.)
— — — (Foch)	PADOVANI (P.)
— — — (Beaujon)	CAUCHOIX (J.)
Clinique de chirurgie infantile et orthopédique (Enfants-Malades)	FÈVRE (M.)
Clinique de chirurgie cardio-vasculaire (Broussais)	DUBOST (Ch.)
Clinique de chirurgie thoracique (Laennec)	MATHEY (J.)
Clinique dermatologique (Saint-Louis)	DUPERRAT (F.)
Clinique endocrinologique (Pitié)	DECOURT (J.)
Clinique de Génétique médicale (Enfants-Malades)	LAMY (M.)
Clinique chirurgicale et gynécologique (Broca)	HUGUIER (J.)
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques (Saint-Louis)	DEGOS (R.)
Clinique des maladies des enfants (Enfants-Malades)	TURPIN (R.)
Clinique des maladies infectieuses (Claude-Bernard)	MOLLARET (P.)
Clinique des maladies mentales et de l'encéphale (Sainte-Anne)	DELAY (J.)
Clinique des maladies du sang (Broussais)	BERNARD (J.)
Clinique des maladies du système nerveux (Salpêtrière)	CASTAIGNE (P.)
Cliniques médicales	{ Bicêtre DEPARIS (M.)
	{ Broussais MILLIEZ (P.)
	{ Cochin N...
	{ Hôtel-Dieu BARIÉTY (M.)
	{ Pitié DREYFUS (G.)
	{ Saint-Antoine CONTE (M.)
	{ Saint-Antoine KOURILSKY (R.)
	Saint-Antoine BOUDIN (G.)

	MM.
Clinique d'hydrologie et de climatologie (Bichat)	DEBRAY (Ch.)
Clinique médicale infantile et pédiatrie sociale (Enfants-Malades)	MARIE (J.)
Clinique médicale propédeutique (Broussais)	JUSTIN-BESANÇON (L.)
Clinique médico-sociale du diabète sucré et des maladies métaboliques (Hôtel-Dieu)	DEROT (M.)
Clinique néphrologique (Necker)	HAMBURGER (J.)
Clinique de neuro-chirurgie (Pitié)	DAVID (M.)
Clinique neurologique (Salpêtrière)	GARGIN (R.)
Cliniques obstétricales	LACOMME (M.)
	Baudelocque Saint-Antoine
Clinique obstétricale et gynécologique (Port-Royal)	MERGER (R.)
Clinique ophtalmologique (Hôtel-Dieu)	VARANGOT (J.)
— — (Cochin)	OFFRET (G.)
Clinique oto-rhino-laryngologique (Lariboisière)	BREGEAT (P.)
Clinique de pédiatrie (Trousseau)	AUBRY (M.)
Clinique de pédiatrie et de puériculture (Saint-Vincent-de-Paul)	MOZZICONACCI (P.)
Clinique de pneumo-phthisiologie (Laennec)	THIEFFRY (S.)
Clinique de neuro-psychiatrie infantile (Salpêtrière)	BROUET (G.)
Clinique de rhumatologie médicale et sociale (Cochin)	MICHAUX (L.)
Clinique de rhumatologie (Lariboisière)	COSTE (F.)
Clinique stomatologique (Salpêtrière)	SÈZE (S. de)
Clinique thérapeutique chirurgicale (Vaugirard)	DECHAUME (M.)
Clinique thérapeutique médicale (Saint-Antoine)	ROUX (M.)
Clinique toxicologique (F. Widal)	LEMAIRE (A.)
Clinique traumatologique et orthopédique (R.-Poincaré)	GAULTIER (M.)
Clinique urologique (Cochin)	JUDET (R.)
— — (Necker)	ABOULKER (P.)
Hygiène et clinique de la première enfance (Trousseau)	COUVELAIRE (R.)
Sémiologie médicale (A. Chantin)	LAPLANE (R.)
— — (Lariboisière)	DOMART (A.)
— — (Pitié)	BOUVRAIN (Y.)
— — (Rothschild)	RAMBERT (P.)
Sémiologie et clinique chirurgicales (Broussais)	WOLFFROMM (R.)
	POILLEUX (F.)

b) **Professeurs à titre personnel :**

Hématologie	ANDRÉ (R.)
	BOUSSER (J.)
Hydrologie et climatologie	GIBERTON (A.)
Maladies infectieuses	BASTIN (R.)
	AZERAD (E.)
	BOUR (H.)
	CAROLI (J.)
	DREYFUS (B.)
	GROSSIORD (A.)
Médecine	LAMBLING (A.)
	LAUNAY (Cl.)
	PAYET (M.)
	PERRAULT (M.)
	SIGUIER (F)
	WORMS (R.)
Néphrologie	RICHET (G.)
Neuro-chirurgie	LE BEAU (J.)
Neurologie	LHERMITTE F.
Neuro-psychiatrie	PICHOT (P.)
Oto-Rhino-Laryngologie	MADURO (R.)
	POLONOVSKI (Cl.)
Pédiatrie	ROYER (P.)
	KREIS (B.)
Pneumo-Phtisiologie	MEYER (A.)
Rhumatologie	DELBARRE (F.)

II. — PROFESSEURS SANS CHAIRE

	MM		MM.
Anatomie pathologique . . .	GOUYGOU (Ch.)	Maladies infectieuses . . .	DUPONT (V.)
Bactériologie	CHRISTOL (D.)	Neuro-psychiatrie	TARDIEU (G.)
Biochimie médicale	{ CARTIER (P.) GONNARD (P.) NORDMANN (J.)	Pédiatrie	ROSSIER (A.)
Biologie médicale	HARTMANN (L.)	Physique médicale	{ COURSAGET (J.) GREMY (F.)
Chirurgie	CERBONNET (G.)	Physiologie	GIRARD (Fr.)
Hématologie	BILSKI-PASQUIER (G.)	Stomatologie	CHAPUT (M ^{me} A.)

III. — PROFESSEURS DÉTACHÉS DANS LES UNIVERSITÉS ÉTRANGÈRES

Bactériologie	HAUDUROY (P.) Pr. s. ch.
Pathologie chirurgicale	RUDLER (J.) Pr. s. ch.

IV. — PROFESSEURS ASSOCIÉS

Hormonologie	MORICARD (R.)
Statistique médicale et épidémiologique . . .	SCHWARTZ (D.)

Secrétaire général de la Faculté	M. LENA (J.)
Conseiller administratif	Mlle CHAINTREUIL (G.)
Conservateur en Chef de la Bibliothèque . .	{ M. le Docteur HAHN (A.)
Conservateur du Musée d'Histoire de la Médecine	
Conservateurs	{ Mlles DUMAITRE (P.), LAURENT (H.), LE NOIR (G.)
Bibliothécaires	{ Mmes CONTET (J.), FORGET (F.), Mlles DUROZOY (M.-F.), ROBERGE (D.), Dr SCHILLER (J.)

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A LA MEMOIRE DE MA MERE

Je dédie cette thèse

A MON PERE

A MES FRERES ET A MES SOEURS

A TOUTE MA FAMILLE

Qu'ils trouvent ici la preuve de notre affection et de
notre reconnaissance

A MA FEMME

A MON FILS NICOLAS

Avec toute mon affection

A MES AMIS

A MONSIEUR LE PROFESSEUR HENRI BOUR

- Professeur à titre personnel à la Faculté de Médecine de PARIS

- Chevalier de la Légion d'Honneur

- Médecin des Hôpitaux de PARIS "Hôtel Dieu"

Qui nous a fait le grand honneur de bien vouloir
présider cette thèse.

En témoignage de notre reconnaissance et de notre
profond respect.

A MON MAITRE

Monsieur LE PROFESSEUR LOUIS VILDE

- Doyen de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de REIMS
- Professeur Agrégé titulaire de la Chaire de Pathologie Médicale
- Médecin des Hôpitaux de REIMS
- Chevalier de la légion d'Honneur
- Officier des Palmes Académiques

Dont nous avons eu l'honneur d'être externe
puis interne dans son service, stages d'un
intérêt sans cesse renouvelé et toujours
grandissant.

En hommage respectueux.

A MON MAITRE

Monsieur le DOCTEUR BERMOND

- Membre de la Société de Diabétologie de Langue française
- Médecin des Hôpitaux de REIMS.

Qui nous a confié le sujet de cette thèse et a
bien voulu guider notre travail.

En témoignage de notre reconnaissance.

A Monsieur le Professeur FELBER

En remerciement de l'aide qu'il nous a apportée
au cours de ce travail.

A MES MAITRES

- MONSIEUR LE PROFESSEUR PIERRE QUEREUX

Professeur Agrégé de la Faculté de Médecine de REIMS

Qui nous a amicalement guidé, encouragé et aidé
au cours de nos études de Médecine.

En témoignage de notre reconnaissance.

- MONSIEUR LE PROFESSEUR JACQUES BASTIEN

Professeur Titulaire de la Chaire de Pathologie Chirurgicale.
Chirurgien des Hôpitaux.

En reconnaissance des stages passés dans son
service.

En hommage respectueux.

A MES MAITRES D'EXTERNAT

Monsieur le Professeur J.-M. DUBOIS DE MONTREYNAUD

Monsieur le Docteur HARDEL

Monsieur le Professeur FANDRE

Monsieur le Professeur G. DROPSY

En remerciement pour leur enseignement.

P L A N

INTRODUCTION

- 1 - GENERALITES
 - 2 - BILAN DES CONNAISSANCES PHYSIO-PATHOGENIQUES
 - 3 - RAPPEL DES METHODES INDIRECTES D'EXPLORATION DE L'INSULINOSÉCRETION
 - 4 - L'INSULINE
 - 5 - LES METHODES DE DOSAGE
 - 6 - LE DOSAGE IMMUNOLOGIQUE DE L'INSULINE
 - 7 - COMPARAISON DES VALEURS OBTENUES PAR LES DIFFERENTES METHODES
 - 8 - RESULTATS
 - 9 - THEORIE DE CONTRAINTE DIABETOGENE - DECOMPENSATION PANCREATIQUE
COEFFICIENT D'EFFICACITE ENDOGENE
 - CONCLUSION
 - BIBLIOGRAPHIE
-

I N T R O D U C T I O N

Le dogme selon lequel le diabète résulte d'une sécrétion insuffisante en valeur absolue par le pancréas, de cette hormone hypoglycémiante que constitue l'Insuline, semble être remis en question par la mise au point et le développement des METHODES DE DOSAGE de L'INSULINE ENDOGENE. Mais étant donné leur complexité, elles semblent devoir rester encore des méthodes de recherche. C'est pourquoi, au cours de ce travail, nous nous bornerons à en souligner les grandes lignes, et à en extraire les éléments pratiques.

Après avoir envisagé quelques considérations générales, sur l'histoire et l'évolution des idées en matière de connaissance pathogénique du diabète, nous rappellerons les différentes méthodes d'exploration indirecte de l'insulino-sécrétion, au travers du Métabolisme des glucides, méthodes qui ont l'avantage de faire intervenir des phénomènes physiologiques.

Mais les progrès de la Biochimie moderne ont apporté des éclaircissements sur la constitution de la molécule d'Insuline, et ont permis ainsi son isolement à l'état pur, sa synthèse en Laboratoire et enfin son dosage dans le sang circulant. Nous évoquerons les principes et les différentes méthodes de dosage de l'Insuline plasmatique actuellement connus, en insistant particulièrement sur le dosage RADIO-IMMUNOLOGIQUE " mis au point par YALOW et BERSON, modifié par HALES et RANDLE ", qui fait aujourd'hui l'unanimité des auteurs en ce qui concerne sa fidélité et sa spécificité ; ce mode de dosage a été entièrement utilisé au Laboratoire de FELBER, pour les travaux de BERMOND, dont nous prendrons en considération les résultats sur 154 dosages pratiqués jusqu'à ce jour et les problèmes soulevés.

I

GENERALITES

On peut dégager dans l'histoire du diabète quatre cycles de recherche (59), dont la découverte de l'insuline par Banting et Best en 1921 représente la plaque tournante. Avant cette date, en effet, la seule possibilité thérapeutique était représentée par le régime dont on avait ressenti la primauté. Les cliniciens distinguaient deux types de diabète (89).

1^o - Le diabète gras, de gravité moyenne, du sujet de la cinquantaine, le plus souvent obèse, diabète bien stabilisé par le régime de restriction hydro-carbonée mis au point par Bouchardat.

2^o - Le diabète maigre, acidocétosique du sujet jeune, pour lequel le traitement était absolument inefficace, la maladie évoluant inéluctablement vers la mort en quelques mois.

Les deux premiers cycles de recherche, ayant trait "à la découverte de la glycosurie et du syndrome hyperglycémique d'une part, à la découverte de l'acidocétose" d'autre part, sont le plus souvent des constatations cliniques connues de longue date, et qui ont été fort peu remises en question par les acquisitions modernes. Par contre, les deux autres cycles :

- données pathogéniques
- connaissances thérapeutiques

font l'objet de la majorité des recherches actuelles.

Si l'hyperglycémie et la glycosurie demeurent les témoins les plus

évocateurs de la maladie, son stigmate principal n'est plus recherché seulement à l'échelon du pancréas, mais à celui des tissus périphériques (104). En effet, les travaux modernes ont peu à peu attiré l'attention sur un certain nombre de faits :

- l'intégrité des îlots de Langerhans lors des vérifications anatomiques dans certains cas,
- les inégalités de l'insulinémie souvent normale ou même élevée,
- les défaillances fréquentes de l'insulinothérapie.

Sur le plan de la thérapeutique, deux périodes importantes ont marqué l'histoire du diabète (104) :

- la première se situe aux alentours de 1921, époque à laquelle les canadiens Banting et Best découvraient l'insuline ;
- mais il a fallu attendre une date relativement récente pour que l'on franchisse une nouvelle étape importante dans le traitement du diabète :

En effet, la découverte de l'insuline ne représentait qu'une étape, et loin de ralentir les recherches, au contraire, elle les a stimulées, à partir du moment où l'on s'est rendu compte :

- que l'insuline est pratiquement inactive lorsqu'elle est administrée par voie digestive,
- que l'insuline purifiée qui est extraite du pancréas, utilisée par voie parentérale, possède une action relativement rapide et brève (6 à 8 heures).

D'où l'idée, d'une part, de prolonger les effets propres de l'insuline purifiée en associant celle-ci à diverses substances (protamine, zinc, globuline), en l'injectant dans les tissus sous forme microcristalline ou en la plaçant dans un milieu de pH déterminé de manière à en retarder sa résorption à partir du point d'injection.

D'autre part, de rechercher des substances anti-diabétiques actives par voie orale.

Diverses structures chimiques ont été proposées puis abandonnées en raison soit de

leur toxicité, soit de leur faible efficacité. Si l'on fait le bilan des acquisitions dans ce domaine (des antidiabétiques oraux,) on constate que deux séries seulement de médicaments ont fait leurs preuves et peuvent être considérés comme valables. Ce sont :

a) Les sulfamides hypoglycémiants (I05 -I06) :

issus de l'école de Montpellier avec Janbon et Loubatières. La priorité de l'application clinique revient à la médecine allemande, avec Frank et Froech. La première commercialisation du BZ 55 marque une étape importante du traitement du diabète, dont les sulfamides hypoglycémiants ont en effet inauguré la voie orale.

Ces produits présentent des avantages incontestables :

- commodité d'administration
- tolérance dans l'ensemble satisfaisante
- toxicité très faible.

Mais leur principal défaut est que l'efficacité thérapeutique est trop souvent transitoire et tend à s'effacer au fur et à mesure que les possibilités de stimulation du pancréas s'épuisent (88).

b) Les dérivés guanidiques

qui ont été synthétisés d'abord sous forme de diguanides mais vite abandonnés en raison de leur toxicité. Les recherches reprennent en 1957, mais s'orientent cette fois, vers les biguanides, appartenant à une famille thérapeutique nouvelle dont les possibilités d'intervention directe sur le milieu intra-cellulaire ouvrent de larges perspectives d'avenir. (I04)

II

BILAN DES CONNAISSANCES PHYSIOPATHOGENIQUES

A - HISTORIQUE

Les premiers travaux importants dans ce domaine ont été ceux de Claude BERNARD, qui voulait tout expliquer par sa découverte de la glycogénie hépatique. Pour Claude BERNARD, "le trouble de la fonction glycogénique du foie commandait toute la pathogénie du diabète dont elle était le fondement".

Mais il a fallu attendre 1889, pour que l'explication du diabète puisse trouver une assise cohérente. A cette date en effet, Minkowski à Strasbourg, découvre que l'ablation du pancréas déclenche chez le chien un diabète grave avec acidocétose comparable dans son aspect et son évolution à celui des diabètes maigres humains (86).

A partir de ce moment, le diabète fut considéré comme relevant d'un trouble de la fonction pancréatique ou plus exactement d'une insuffisance de sécrétion interne d'une substance encore inconnue qui s'opposait à l'élévation de la glycémie.

Une théorie cherchant à expliquer l'ensemble des cas de diabète était alors proposée et universellement acceptée, on pouvait la résumer de la façon suivante :
en l'absence du pancréas, le glucose n'est pas utilisé, il s'accumule dans le sang et est rejeté dans l'urine. On a affaire à un diabète grave acidocétosique. Si le trouble de la fonction pancréatique n'est que partiel, les perturbations observées sont moins sévères. Une partie du glucose absorbé par l'alimentation est encore utilisable. Il suffit dans ces conditions de réduire l'apport alimentaire aux

possibilités restantes d'utilisation pour guérir le malade. C'est ce que l'on pense faire par la restriction glucidique dans le diabète gras.

Tous les efforts devaient s'orienter à ce moment vers l'extraction, à partir du pancréas de la substance responsable ; une fois en possession de cette dernière, il suffirait alors d'en administrer suffisamment au diabétique pour lui permettre d'utiliser le glucose nécessaire.

Pendant plus de trente ans, dans les laboratoires du monde entier, on s'efforça de résoudre ce problème,

- soit par la greffe du pancréas,

- soit par l'extraction à partir du pancréas d'animaux variés, de la substance active.

Ces efforts sont couronnés de succès en 1921, Banting et Best à TORONTO isolent une substance qui va bientôt s'appeler insuline. La première injection est faite le 11 janvier 1922 à un jeune diabétique en acidocétose. Pour la première fois, un sujet guérissait d'un coma diabétique.

C'était la confirmation de l'origine pancréatique du diabète, dont la gravité dépendait de l'atteinte complète ou partielle du pancréas ou plus précisément des îlots de Langerhans d'où le nom d'insuline donné à cette substance.

Une relation directe semble pouvoir être établie entre, d'une part, la quantité de glycosurie et l'insuffisance d'insuline, et d'autre part entre la quantité d'insuline à administrer et la ration alimentaire ingérée. Allant plus loin, une exploration dynamique du pancréas apparaît possible, grâce à l'épreuve d'hyperglycémie provoquée qui permettrait de dépister les insuffisances pancréatiques potentielles donc les candidats au diabète.

Ainsi toute la régulation glycémique apparaissait liée au comportement pancréatique.

Rien n'est changé en principe à cette conception par la découverte des sulfamides hypoglycémiants qui auraient pour effet de stimuler la sécrétion d'insuline par le pancréas normal ou légèrement défaillant du diabète gras, mais se révélant inefficace dans l'insuffisance pancréatique totale du diabète maigre.

En fait, à cette théorie de la non utilisation du glucose par l'organisme en l'absence d'insuline, les expériences poursuivies, tant chez l'homme que chez l'animal, à l'aide de techniques variées et en particulier à l'aide d'éléments marqués, ont permis de démontrer :

1^o - Que l'utilisation du glucose continuait à se faire dans les cellules en l'absence d'insuline, et que le métabolisme intra-cellulaire ne subissait pas de modification profonde, du fait de l'absence de cette hormone. L'hyperglycémie apparaissait alors comme une réaction de défense de l'organisme, l'augmentation de la "pression glycémique" compensant la difficulté de passage à l'intérieur des cellules. L'insuline a, en effet, essentiellement pour action de faciliter le passage du glucose dans les cellules. (87)

2^o - Une autre notion se faisait jour, ou plus exactement revenait à la lumière : le rôle du foie dans la régulation de la glycémie. Ce rôle parfaitement mis en évidence par Claude BERNARD il y a un siècle, avait été oublié. (86) Or, on sait que le foie a pour grande fonction celle de sécréter du glucose en quantité variable suivant les besoins. Il en résulte que, grâce à ce rôle régulateur du foie, quelle que soit la quantité de glucose alimentaire ingéré, les cellules reçoivent finalement l'énergie glucidique dont elles ont besoin. Pour cela le foie peut, soit puiser directement dans les réserves glucidiques de l'organisme, constituées par le glycogène, soit recourir à la néoglycogénèse par l'intermédiaire du cycle tricarboxylique de Krebs, au prix d'une libération de déchets acido-cétosiques. (Fig. 1)

Ces modifications apportées à la théorie de la non-utilisation du glucose permettent de penser que le trouble fondamental du diabète est lié non pas à l'impossibilité ou même à l'insuffisance d'utilisation du glucose, mais à une difficulté de

passage du glucose à l'intérieur de la cellule.

B - CONCEPTIONS ACTUELLES

Ce qui nous amène à prendre en considération :

- d'une part les phénomènes enzymatiques et métaboliques de la glycorégulation, (I04 - 91)

- d'autre part le retentissement éventuel des autres facteurs qui tendent à s'y opposer, système neuro-endocrinien, anti-insulines, etc...

1 - Les phénomènes enzymatiques et métaboliques intervenant dans la glycorégulation :

Avec les progrès de la biochimie moderne, à la notion d'hormone purement hypoglycémiante s'est substituée la conception d'une substance agissant sur tous les métabolismes, lipidique, glucidique, protidique. (92 -I04).

Les troubles du métabolisme des lipides au cours du diabète sont connus de longue date, puisqu'il est classique d'opposer, avec Lancereaux, les diabètes gras, les diabètes maigres, et qu'une des caractéristiques de l'animal diabétique est l'incapacité marquée de synthétiser les acides gras et de stocker les hydrates de carbone sous forme de graisse. Ce blocage ne semble pas dû à l'action directe de l'insuline, mais paraît secondaire à la diminution du pouvoir d'oxydation du glucose. (I43)

Le mécanisme responsable de l'inter-réaction entre dégradation du glucose et synthèse des acides gras a été très discuté. La théorie actuellement admise est celle qui fait intervenir le rôle primordial du T P N H (x) (N A D P H) dans les deux voies de la glycolyse. (Fig. 2)

a) La voie d'Embden Meyerhof :

voie classique, qui partant du glucose-6-Phosphate aboutit au pyruvate.

(x) T P N H : Actuellement dénommé Nicotinamide-Adénine-Dinucléotide-Phosphate ou N A D P H

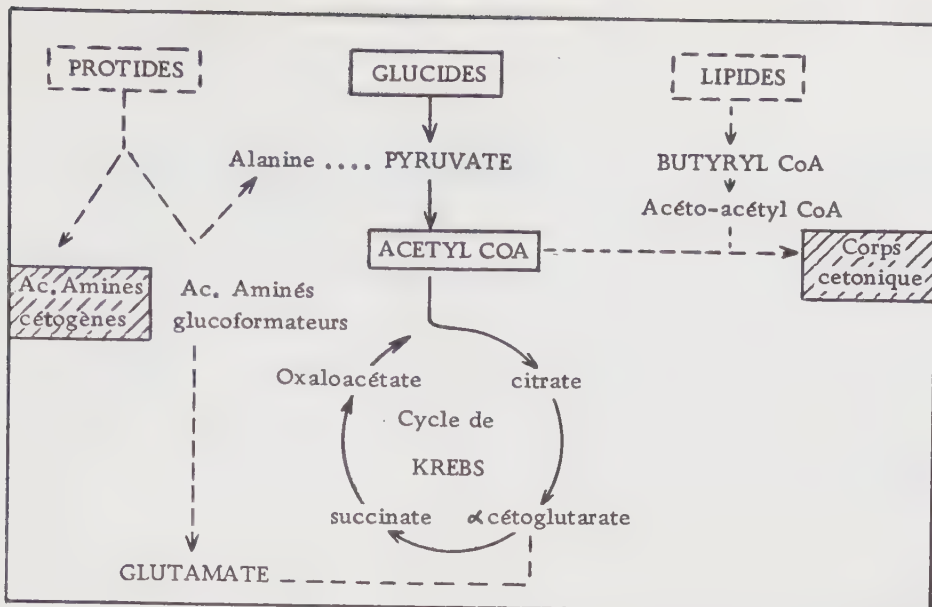
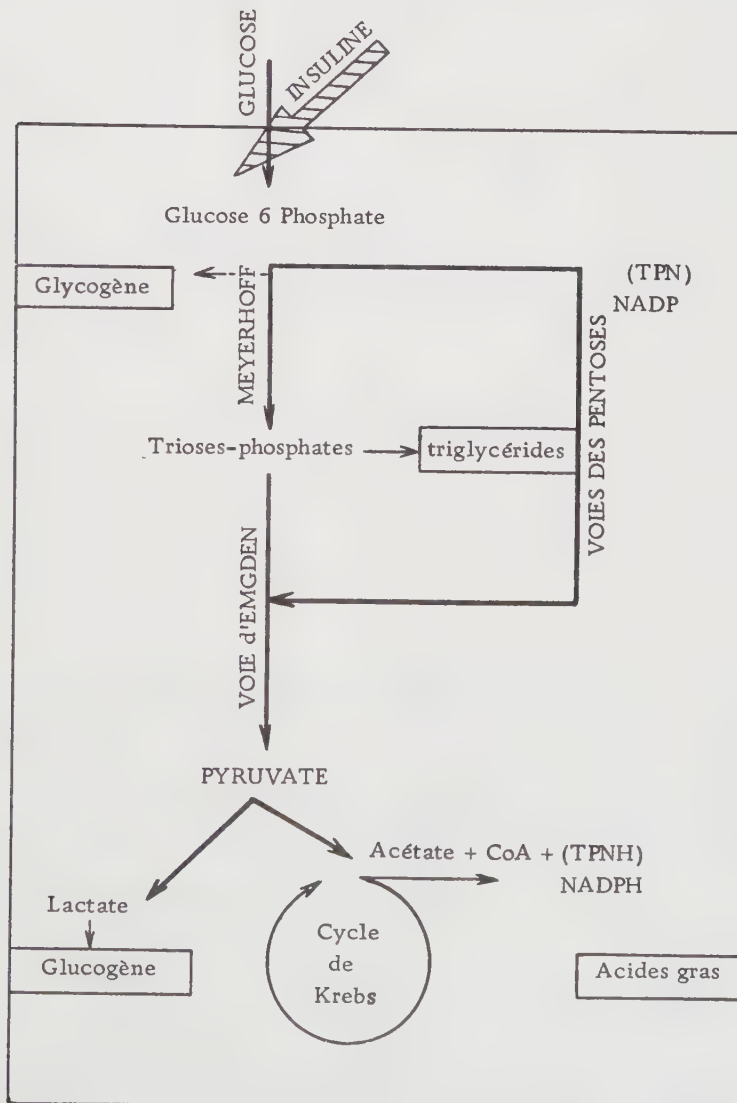


Fig. 1



GLYCOLYSE INTRA-CELLULAIRE

Fig. 2

b) La voie des pentoses-phosphate ou voie du shunt hexosemonophosphate, qui partant du glucose-6-phosphate aboutit au fructose-6-phosphate et au glycéral-déhyde-3-phosphate. Ces derniers dérivés vont rejoindre la voie précédente.

La différence essentielle entre ces deux voies est que le shunt hexosemonophosphate réclame la présence, comme accepteur d'hydrogène, de T P N (N A D P), alors que ce cofacteur pyridique n'est pas indispensable à la dégradation par la voie d'Emden Meyerhof.

Le T P N (N A D P) est réduit lors de l'oxydation par la voie des Pentoses en T P N H (N A D P H) et c'est la formation de T P N H qui semble le fait important. Normalement, la voie la plus utilisée est la voie d'Emden Meyerhof. (143)

Sans entrer dans le détail de la synthèse des acides gras, on peut se contenter de dire : au cours des carences insuliniques le défaut d'oxydation du glucose favorise un déficit d'action T P N H (N A D P H) et par conséquent une diminution de la synthèse des acides gras.

Le mécanisme par lequel l'insuline stimule la synthèse protéique reste obscur (92), mais la dénutrition azotée du diabète maigre humain et du diabète expérimental par pancréatectomie témoigne d'une intervention de l'insuline dans la synthèse des protéines (95).

2 - Les autres facteurs intervenant dans la glycorégulation :

Parallèlement à l'action de l'insuline au niveau des diverses étapes métaboliques pour faciliter la pénétration du glucose, il existe toute une série de facteurs qui semblent vouloir s'opposer à cette action réalisant ainsi une véritable résistance périphérique à l'action insulinique.

Parmi eux, nous retiendrons

- la vitesse accrue de destruction de l'hormone,
- l'intervention des autres hormones, (103)

- la présence d'antagonistes de l'insuline, (I49 -I26)
- la possibilité d'une structure chimique anormale.

a) Vitesse accrue de destruction de l'insuline : (59)

Il a été décrit un système inactivateur de l'insuline connu sous le nom d'insulinase, présent dans le foie, le rein, et certains autres tissus et qui aurait pour rôle un clivage primitif de la molécule suivi d'hydrolyse. Cet enzyme décrit par Mirsky (I01-I02) a un rôle qui n'a pas été très nettement démontré.

b) Intervention des facteurs hormonaux (40-59) :

L'intervention des facteurs hormonaux a été prise en considération depuis que Houssay a mis en évidence l'action diabétogène de l'antéhypophyse. Il a pu obtenir le rétablissement de la glycémie chez un chien dépancréaté, en pratiquant secondairement une hypophysectomie. L'injection d'extraits antéhypophysaires faisant réapparaître l'hyperglycémie. L'hormone diabétogène de Houssay ou contra-insuline, a été assimilée depuis à l'hormone somatotrope.

En outre, on sait que le diabète apparaît avec prédilection au cours de la croissance ou de la grossesse, deux états où l'on admet que la sécrétion de l'hormone somatotrope atteint son maximum.

Depuis, toute une série d'hormones antagonistes de l'action insulinique ont été décrites, le glucagon (48), l'hormone thyroïdienne, les glucocorticoïdes, etc... (40).

D'une manière générale, on peut dire que malgré bien des inconnues, l'insuline stimule et favorise les voies de synthèse et de stockage anabolique, alors que la plupart des hormones anti-insuline, favorisent essentiellement les voies du catabolisme. (Bour a insisté à plusieurs reprises sur ces faits).

Enfin pour en terminer avec les facteurs qui établissent "une"résistance" à l'action de l'insuline, nous signalerons les antagonistes de l'insuline distincts

de l'insulinase et des anticorps apparaissant après thérapeutique insulinique, et qui ont été décrits par Vallance Owen (140).

Une suggestion récente de Young (59) évoque la possibilité d'anomalie congénitale de biosynthèse de l'insuline, conduisant à une molécule "insulinoïde" douée d'une activité biologique réduite ou nulle.

En conclusion, nous voyons donc qu'à côté d'une insuffisance pancréatique qui peut être absolue (diabète maigre), ou relative, prend naissance la notion d'une résistance périphérique à l'action de l'insuline, faisant intervenir une véritable décompensation périphérique (104), la fonction pancréatique étant normale ou subnormale. Cette hypothèse trouve un large écho dans le dosage de l'insuline endogène.

III

RAPPEL DES METHODES INDIRECTES D'EXPLORATION DE L'INSULINOSECRETION

Il est certain que la connaissance de l'insulinosecrétion, en matière de pathologie du pancréas endocrine est du plus grand intérêt, mais malheureusement, elle se heurte à de telles difficultés techniques et pratiques, que, jusqu'à ces dernières années, c'est par l'étude des perturbations du métabolisme des glucides que l'on s'efforçait d'apprécier le fonctionnement du pancréas endocrine (96-34).

Ces méthodes d'exploration, qui gardent encore tout leur intérêt sur le plan pratique, qu'elles sont-elles ?

Elles sont essentiellement de deux types :

- statiques
- dynamiques.

1) LES EPREUVES STATIQUES INDIRECTES

A- La glucosurie

Plus qu'un procédé d'exploration de la fonction endocrine du pancréas, c'est un test de dépistage du diabète et un procédé indispensable pour suivre et régler le régime et le traitement du diabète sucré.

Nous n'insisterons pas sur les méthodes de recherche et de dosage qui sont très classiques. Il convient de signaler que la positivité des réactions chimiques

de recherche signifie glucidurie ou méliturie et non pas glucosurie. Il est donc indispensable de caractériser, surtout chez l'enfant et la femme enceinte, la nature de l'ose réducteur dans les urines, ou vérifier par l'emploi des tests à la glucose-oxydase qu'il s'agit bien de glucose.

B- Etude de la glycémie à jeun.

La recherche de la glucosurie doit être automatiquement complétée par l'étude de la glycémie à jeun.

La glycémie est un dosage de "routine" qui nécessite la mise en oeuvre d'une technique rigoureuse, en particulier pour les microméthodes qui sont couramment employées chez le nourrisson et le jeune enfant ; elle doit éviter la glycolyse dans le sang rendu incoagulable par recueil sur une quantité adéquate de fluorure, ou mieux d'un mélange de fluorure et d'oxalate.

Plusieurs techniques de dosage sont employées, le plus souvent elles sont basées sur le pouvoir réducteur d'un filtrat de défécation (exprimé en glucose). Deux remarques sont à souligner concernant ces méthodes de dosage :

1^o La spécificité des méthodes enzymatiques de Huggett et Nixon permettant de doser le glucose vrai.

2^o L'intérêt des dosages chimiques automatiques qui offrent un caractère de sécurité particulièrement précieux et permettent éventuellement un dosage en continu ou en semi-continu grâce à un auto-analyseur (45).

Enfin il est absolument indispensable de signaler la méthode de dosage utilisée sur la fiche de résultats. Même pour des techniques aussi classiques que la méthode de Baudoin - Lewin ou celle de Hagedorn - Jensen, il n'est pas facile de retrouver dans la littérature une définition constante de la zone physiologique.

Quoiqu'il en soit, la glycémie à jeun d'un adulte normal, est remarquablement fixe pour une même technique de dosage, elle dépend de l'équilibre qui existe, à distance des repas entre l'utilisation du glucose par les cellules et sa libération par le foie.

En négligeant habituellement les faibles différences existant entre le sang artériel et le sang veineux, entre plasma et globules rouges, on peut admettre qu'en éliminant par défécation correcte les autres corps réducteurs le taux du sucre sanguin est de :

$\approx$ 0,90 g/litre à jeun.

Des valeurs franchement anormales ont à elles seules une signification considérable, surtout si elles se retrouvent à plusieurs examens.

2) LES EPREUVES DYNAMIQUES

Ces épreuves dynamiques ont enrichi ces dernières années l'arsenal biologique d'exploration de la glycorégulation. Elles ont en commun le but d'éprouver la valeur du mécanisme de la régulation de la glycémie soit :

- à une sollicitation simple : hyperglycémiant ou hypoglycémiant
- soit à une sollicitation double, combinant une association ou une opposition d'effet.

A- Tests de tolérance au glucose par voie orale

Ces méthodes étudient l'évolution de la glycémie après une surcharge glucidique (63).

La première épreuve de surcharge au glucose a été imaginée et réalisée en France dès 1908 par Baudouin. Depuis, de très nombreux protocoles ont été proposés en France et à l'étranger où la dénomination habituelle de "test de tolérance au

glucose" remplace celle "d'hyperglycémie provoquée". Ces techniques sont fonction :

- de la quantité du glucose donné
- de son mode d'administration
- de l'horaire des prélèvements.

Nous ne ferons que rappeler brièvement ces différentes méthodes qui marquent les étapes évolutives depuis la découverte de Baudouin, pour insister sur celle qui est la plus suivie en France.

Pour Baudouin et Gilbert en 1908, la technique comportait l'absorption de 1 g de sucre dissous dans 8 cm³ d'eau par Kg de poids. Une glycémie avant l'épreuve puis toutes les 10 minutes pendant un temps variable (3/4 h à 3 heures).

Ensuite la codification de M. Labbé et Nepveux - Boulin en 1932 consistait à donner une dose unique et fixe de glucose 50 g pour l'adulte et 25 g chez l'enfant au dessous de 10 ans, avec des contrôles au départ et à la 20e, 40e, 60e, 120e et 180e minute. Ces auteurs accordaient une grande importance à l'aire du triangle d'hyperglycémie. Boulin attire l'attention sur plusieurs imperfections de cette estimation et propose un peu plus tard une épreuve écourtée où il limite les prélèvements à 3 ($\frac{1}{2}$ - 1 h - 1 $\frac{1}{2}$ h).

Enfin il convient de signaler un protocole d'épreuve qui est légèrement différent de celui de l'école Française, c'est le Standard Oral Glucose Test des Anglo saxons.

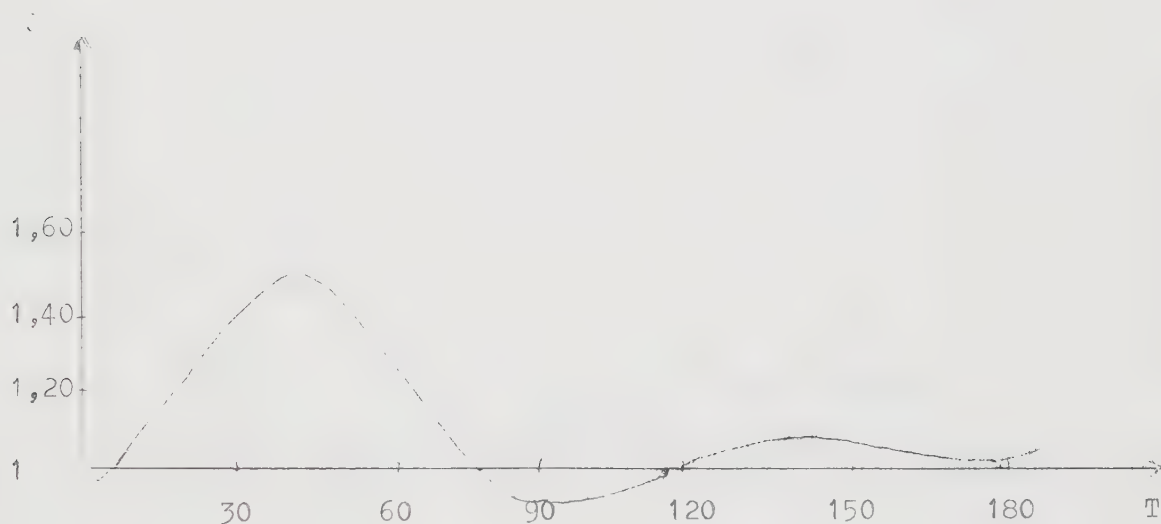
La technique la plus généralement suivie en France, associe à l'étude de la glycémie une étude de la glycosurie fractionnée.

Le sujet à jeun depuis au moins 13 heures sans régime préalable vide sa vessie et subit une première prise de sang, puis absorbe 50 g de glucose dissous dans 150 cm³ d'eau et reste au repos.

Toutes les 30 minutes pendant 2 heures a lieu une prise de sang, suivie chaque fois

- d'une absorption de 100 g d'eau dans les 5 mn
- d'une émission d'urine entre la 15e et la 20e minute.

Les résultats sont transmis sous la forme d'une courbe de la glycémie en fonction du temps. En prenant la même limite pour représenter 1 g de glucose en ordonnée et 60 minutes en abscisse (59 - 63).



La courbe obtenue a vaguement une forme triangulaire à base inférieure. Les diabétologues accordent une particulière importance à la hauteur du triangle, qui est la flèche d'hyperglycémie et le temps de retour de la glycémie à la normale. Ce qui nous amène à prendre en considération une première variante du test de tolérance au glucose par voie orale qui est :

- L'épreuve prolongée ou l'étude de l'hypoglycémie réactionnelle à laquelle s'attachèrent particulièrement Depisch et Hasenohrl et dont la durée varie entre 20 mn et 2 heures, mais elle peut atteindre 4 heures. L'onde d'hypoglycémie

serait pour certains auteurs proportionnelle à la capacité fonctionnelle des îlots de Langerhans chez le diabétique.

- Les autres variantes

1² Epreuve écourtée - estimant que seul le niveau atteint suffit pour le diagnostic.

2² Les épreuves sensibilisées ou couplées hormones glucose.

Elles ont le but de déceler des états pathologiques en sensibilisant les tests au glucose par l'effet hyperglycémiant de certaines hormones. Le test de cortisone glucose de Conn est le plus connu, mais plusieurs autres ont été proposés.

3² Tests de Double charge glucosée - (Epreuve de Traugott et effet Staub.) Explorent la sécrétion insulinique déclenchée par l'hyperglycémie. Si chez un sujet normal qui a absorbé une certaine dose de glucose on administre pendant la poussée hyperglycémique une deuxième dose de glucose on remarque que cette deuxième absorption n'entraîne pas une nouvelle vague d'hyperglycémie. Chez le diabétique au contraire, la deuxième absorption provoque un accroissement de la glycémie, cette remarque est à la base de l'épreuve de Traugott.

B- Epreuves de tolérance au glucose par voie veineuse

Ces épreuves veulent étudier de façon plus précise l'utilisation du glucose par les tissus et éviter l'influence des variations de vitesse d'absorption intestinale et de rétention hépatique du glucose ingéré. Divers auteurs ont proposé l'administration I V de glucose parmi lesquels il faut citer en France Azerad et Lestradet.

Le sujet doit être soumis à un régime équilibré en calories et comprenant 250 g de glucides pendant les 3 jours qui précèdent l'épreuve.

Après un premier prélèvement sanguin, pour connaître la glycémie de base, on injecte une solution glucosée à 66 % par voie veineuse pendant 2 à 3 mn. L'injection terminée un prélèvement de sang toutes les dix minutes pendant une heure.

L'évolution de la glycémie pendant l'épreuve est la suivante :

- L'injection provoque une inondation de l'espace extracellulaire par le glucose pendant 5 à 10 minutes et la flèche d'hyperglycémie en fin d'injection est proportionnelle à la quantité de glucose administré.

- Ensuite la glycémie tend à revenir vers sa valeur de départ en décrivant un certain nombre d'oscillations autour du taux de base. La partie moyenne de la courbe correspond à la captation du glucose par les tissus et donc à l'assimilation proprement dite.

On peut construire une représentation semilogarithmique de l'épreuve en portant les résultats de la glycémie exprimés en milligrammes pour 100 ml en ordonnée du côté logarithmique et le temps en minute en abscisse. On obtient une droite, qui peut être définie par deux constantes

- son ordonnée à l'origine qui mesure la diffusion simple du glucose

- son coefficient angulaire R qui dépend de la captation tissulaire appelé coefficient d'assimilation glucidique

Si on désigne par :

G 1 et G 2 les taux de la glycémie aux temps t1 et t2 on aura

$$K = \frac{\log G1 - \log G2}{t2 - t1}$$

En conclusion, comme le disent très justement Bastenie et Conard, l'épreuve intraveineuse ne constitue pas un simple perfectionnement de l'épreuve per os, mais elle la complète pour établir le bilan métabolique d'un sujet ou pour déceler une imprégnation insulinique anormale, son indication dans le pré-diabète est intéressante (47).

Enfin pour terminer ces épreuves d'hyperglycémie, nous ne ferons que mentionner les épreuves

à l'adrénaline

et au glucagon

qui mettent en évidence la libération du glucose par le foie à partir du glycogène.

3) LES EPREUVES D'HYPOLYCEMIE PROVOQUEE

A) Epreuve de jeûne

Certains accidents hypoglycémiques peuvent survenir chez les enfants à jeun. L'influence du jeûne peut donc être systématiquement recherchée dans le cas où l'on soupçonne un hyperinsulinisme organique, type adénome langèrhanien. On hésite évidemment à soumettre les enfants à un jeûne important. Certaines techniques reposent sur l'utilisation d'un jeûne relatif.

B) Epreuves d'hypoglycémie provoquée par l'insuline

D'emblée nous insisterons sur le caractère dangereux de cette épreuve qui consiste à ajouter les effets de l'insuline exogène à ceux de l'insuline endogène. Cette épreuve exige donc une surveillance médicale permanente et très soigneuse.

La première épreuve d'hypoglycémie provoquée par l'insuline a été proposée par Sendrail et Dadoslaw en 1928, qui préconisaient l'injection intramusculaire d'insuline à raison de 0,25 u par kg de poids et les prélèvements s'échelonnant entre 3 et 6 heures.

La voie veineuse a été introduite par Norgaard et Thayssen dont le protocole assez complexe a été modifié à l'heure actuelle de la façon suivante

Injection I V d'insuline ordinaire 0,1 u/kg poids

prélèvement toutes les 10 minutes pendant 1 heure.

Cette épreuve peut mettre en évidence une insulino résistance chez le sujet diabétique mais il faut savoir que l'insuline injectée est de nature animale et que le concept d'insulino sensibilité ou insulino insensibilité ne préjugent en rien du mécanisme physiopathologique : ils peuvent servir à guider la thérapeutique.

C) Epreuves d'hypoglycémie aux hypoglycémiants de synthèse

La découverte des sulfamides hypoglycémiants a été à l'origine de nouvelles techniques d'exploration du pancréas endocrine. Si le mode d'action de ces drogues n'est pas encore entièrement connu, il semble exister deux mécanismes différents.

Une stimulation de la sécrétion et la libération d'insuline par les cellules B

- Une libération d'insuline active par scission des complexes inactifs.

TEST DE TOLERANCE AU TOLBUTAMIDE INTRAVEINEUX

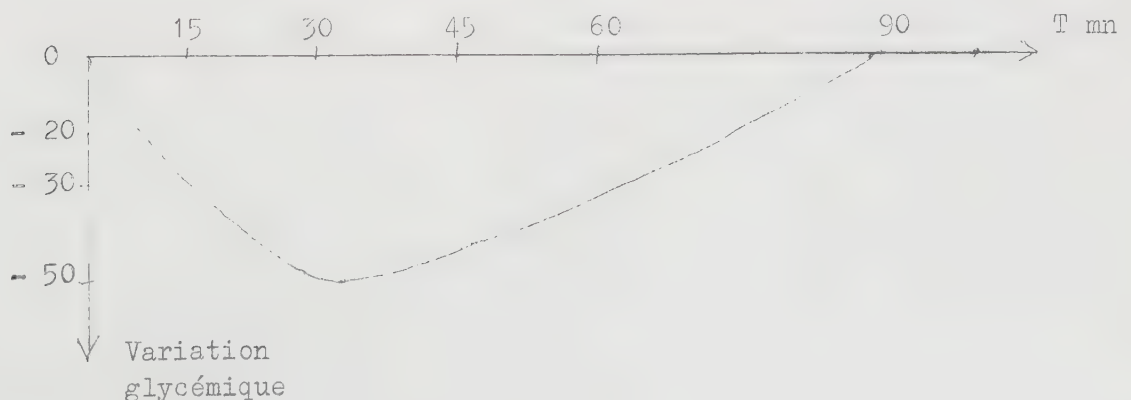
A ce test s'attachent les noms de Unger et Madison qui le proposèrent en 1957 (130).

Technique

Le sujet, à jeun, depuis 13 h, au régime depuis trois jours, reçoit après prise de sang initiale, 1 g de tolbutamide en I V lente (2 minutes)

La glycémie est mesurée tous les 1/4 d'heure pendant 90 minutes.

On obtient une courbe dont l'allure générale est la suivante :



Ce test est considéré par certains auteurs comme un test d'activité thérapeutique du produit utilisé.

Parmi les épreuves couplées, il convient de signaler la technique de Barros associant Tolbutamide -Decadron.

En conclusion, il convient d'insister sur la valeur considérable de ces méthodes d'exploration indirecte de l'insulino- sécrétion, qui cependant laissent inexplorés certains côtés de la pathogénie du diabète et notamment les niveaux auxquels s'opèrent l'équilibre ou la recherche d'équilibre, d'où la persévérance des travaux en vue de calculer les quantités d'insuline consommée, c'est là l'objet principal de cette thèse.

L'INSULINE

L'insuline est la première hormone de nature protéique, obtenue sous sa forme la plus pure. En effet

- cristallisée par Abel en 1926
- trente ans plus tard Frederick Sanger et ses collaborateurs dévoilaient la structure chimique exacte de la molécule d'insuline (106).

Cette découverte qui est "due à la biochimie moderne" ouvrait une voie d'un intérêt théorique et pratique des plus grand. De ces recherches est née la notion de spécificité chimique des diverses espèces, notion qui avait déjà été longtemps soupçonnée pour l'insuline (78).

Propriétés physico chimiques

Il s'agit donc d'une hormone de nature protéique sécrétée par les cellules bêta des îlots de Langerhans. Elle est extraite du pancréas de divers mammifères (boeuf, porc, cheval, mouton). Il est à signaler que la préparation de l'hormone humaine a été récemment décrite, elle fait appel à un procédé de purification spécial .

L'insuline se présente sous l'aspect d'une poudre blanche, soluble dans l'eau, rendue acide ou alcaline, mais insoluble dans l'eau à son point iso-électrique. Contrairement au glucagon, l'insuline est inactivée par les substances possédant une fonction thiol. Elle est sensible à l'action dénaturante de certains enzymes comme la pepsine et la trypsine qui l'inactivent. C'est la raison pour

laquelle l'insuline ne peut être administrée par voie orale. On sait également qu'il existe dans le foie des enzymes inactivant l'insuline, appelées insulinasé responsables de la courte durée de vie de l'insuline in vivo (IOI).

L'activité hypoglycémisante de l'insuline et de ses préparations, est exprimée en unités internationales par comparaison à un étalon international dont une unité correspond à l'activité hypoglycémisante de 40,82 μ g d'insuline étalon, c'est-à-dire que cet étalon contient 24,5 unités internationales par milligramme. Les préparations d'insuline les plus pures atteignent une activité de 27 unités par milligramme.

Au point de vue chimique (IO6 - 78), l'insuline est un peptide, c'est-à-dire que sa molécule est exclusivement formée d'acides aminés unis entre eux par des liaisons peptidiques, structure fondamentale de toute molécule protéique.

Le poids moléculaire de ce peptide n'a pas été aisé à établir, car, suivant les méthodes utilisées, les chiffres primitivement trouvés variaient entre 6.000 et 48.000.

On considère aujourd'hui l'insuline comme un polymère d'une unité moléculaire dont le poids moléculaire est voisin de 6.000 (5.807 pour l'insuline humaine).

Les résultats obtenus à l'aide de la méthode de distribution à contre courant, ont en effet prouvé que l'insuline pouvait posséder dans certaines conditions un poids moléculaire de 6.000. Les valeurs supérieures enregistrées par d'autres méthodes résultent du fait que les unités élémentaires pouvaient aisément s'associer en solution en formant de véritables polymères dont le poids moléculaire est un multiple de ce chiffre.

Le degré d'association des unités moléculaires d'insuline en solution aqueuse dépend

principalement de la concentration en hormone
de la température
du pH
et de la teneur en zinc de la solution. Aux grandes dilutions la molécule d'insuline
est à l'état de monomère.

Structure chimique

La détermination de la structure chimique de l'insuline par Sanger
demeurera sans doute l'une des dates les plus marquantes de l'histoire de la biochimie
moderne (I21-I22).

Ce travail qui lui a valu le prix Nobel en 1958 ouvre une voie nouvelle
d'investigations des plus fructueuses dans l'histoire de la chimie des protéines.

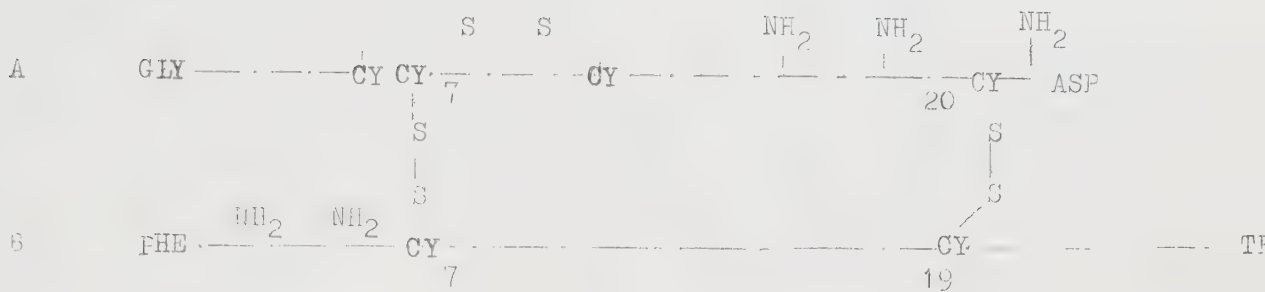
La molécule d'insuline de mammifère est constituée par 2 chaînes
peptidiques A et B, réunies entre elles par deux points disulfure S-S, formés par
des molécules de cystine. Un troisième point disulfure unit deux parties de la
chaîne A. (Fig 1)

La chaîne A comporte 21 acides aminés et possède un caractère acide.

La chaîne B est constituée de 30 acides aminés et présente un
caractère basique.

Les deux chaînes sont réunies entre A7 et B7
et entre A20 et B19.

Un troisième pont disulfure relie la chaîne A de A6 à A11 en formant un anneau à
l'intérieur duquel sont formés quatre acides aminés.



Structure primaire de l'insuline humaine. (Fig 1)

L'analyse chromatographique de l'insuline de mammifère a permis d'y caractériser de façon constante 16 acides aminés différents, la plupart d'entre eux apparaissent plusieurs fois dans la molécule. Parmi les acides aminés usuels manquent : le tryptophane et la méthionine.

Sanger est parvenu à déterminer l'ordre d'enchaînement des acides aminés c'est-à-dire la structure primaire de la molécule d'insuline.

Par la suite, l'analyse de l'hormone d'autres mammifères montra que, selon l'espèce considérée, certaines variantes pouvaient apparaître dans la séquence des amino acides au niveau des deux chaînes. Chez beaucoup d'espèces tels que le boeuf, mouton et porc, la baleine etc, les variantes portent exclusivement sur les acides aminés situés en position A8, A9, A10 et B30.

On constate que l'insuline humaine dont la séquence a été déterminée en 1960 par Nicol et Smith possède une structure très voisine de celle du porc alors que les hormones de boeuf et de mouton accusent des différences plus accentuées. (106 - 78).

Au cours de ces dernières années, on a entrepris la détermination de la structure moléculaire d'insuline provenant d'autres classes de vertébrés. A ce propos il faut signaler les travaux effectués par les japonais dans ce domaine où l'industrie du poisson est particulièrement développée. De grandes divergences entre les séquences peptidiques apparaissent entre les chaînes A et B qui possèdent sensiblement la même longueur. Toutefois l'activité physiologique de ces insulines demeure la même quelle que soit leur origine animale.

On peut donc conclure que l'activité de l'insuline n'est pas liée à une séquence peptidique dont la spécificité serait très étroite mais qu'elle doit être rapportée plutôt à la configuration de la molécule.

Les travaux de Sanger ont donc permis d'assigner à la molécule d'insuline une formule plane représentant la structure primaire de l'hormone. Or, cette formule ne laisse en rien préjuger de la configuration que peut présenter cette molécule dans l'espace. De fait un certain nombre de travaux expérimentaux suggèrent que la structure primaire ne permet pas de rendre compte de toutes les propriétés de l'insuline, en particulier de ses propriétés immunologiques.

La structure spatiale de l'insuline correspond aux modalités d'agencements des chaînes peptidiques dans les trois dimensions. Partant de données physiques, plusieurs modèles ont été proposés qui tentent de reproduire les structures secondaires et tertiaire de l'hormone. Parmi ces schémas qui demeurent encore tout à fait théoriques, on admet actuellement :

- La structure en hélice α enroulée à droite pour la chaîne B
- et en hélice α enroulée à gauche pour la chaîne A.
- tandis que la chaîne peptidique incluse à l'intérieur du pont disulfure intrapeptidique forme une boucle externe qui est facilement accessible.

La connaissance de structure chimique des insulines a permis d'étudier les relations qui existent entre cette structure et l'activité biologique de l'hormone.

Les recherches visant à mettre en évidence un "site actif" dans la molécule d'insuline n'ont pas abouti, car il n'a pas été possible jusqu'ici de rapporter les propriétés physiologiques de l'hormone à une séquence peptidique déterminée.

Un des moyens d'étudier les relations entre structure et activité consiste à tester l'action physiologique de l'hormone après dégradation ménagée de la molécule par des enzymes protéolytiques ou divers agents chimiques. On obtient ainsi un raccourcissement plus ou moins important des deux chaînes (Nicol, Young, Carpentier).

Il est généralement admis actuellement que :

1° La rupture des liaisons disulfure abolit totalement l'activité biologique de l'insuline.

2° Les autres groupements chimiques essentiels à l'activité physiologique de la molécule sont :

- les carboxyles libres
- les hydroxyles phénoliques.

3° Par contre les groupements aminés, guanidiques et amides, ainsi que les hydroxyles aliphatiques ne semblent pas nécessaires au maintien de l'activité.

L'ensemble des travaux effectués par Sanger sur la structure chimique de l'insuline, a permis aux chimistes de mener à bien la synthèse totale de la molécule, qui demeure pour le moment une curiosité de laboratoire. Elle ouvre d'immenses perspectives aux biologistes en particulier en ce qui concerne les problèmes immunologiques.

LES METHODES DE DOSAGE

Comment dose-t-on l'insuline plasmatique ?

Principe de base : Bien que son activité physiologique puisse s'exercer dans toute la série animale, chaque insuline possède des caractères qui lui sont spécifiques (51).

Chaque animal secrète son insuline. On admet aujourd'hui que l'activité physiologique est fonction des liaisons disulfure, alors que la spécificité biologique de la molécule dépend des acides aminés constituant les chaînes A et B. Cette spécificité confère à la molécule d'insuline un pouvoir antigénique qui se manifeste chaque fois qu'une insuline donnée est injectée à un animal différent de celui qui l'a secrétée (52).

Cette double propriété :

- pouvoir physiologique d'abaissement de la glycémie
- pouvoir antigénique provoquant le développement d'anticorps

est à la base des différents procédés de dosage de l'insuline.

Nous seront donc amenés à prendre en considération deux grands groupes de méthodes de dosage de l'insuline endogène :

- a) les méthodes basées sur les propriétés physiologiques
- b) les méthodes basées sur les propriétés antigéniques de la

molécule qui sont de deux types :

- immunologique
- et radio immunologique.

A- DOSAGE BIOLOGIQUE DE L'ACTIVITE INSULINIQUE

L'insuline, agissant sur la membrane cellulaire suivant un mécanisme encore inconnu, est capable de provoquer la fixation du glucose extra cellulaire à l'intérieur de la cellule. Du passage du glucose à travers la membrane cellulaire, il en résultera :

- in vivo, une diminution du taux de la glycémie
- in vitro, un appauvrissement du milieu d'incubation en glucose.

Chacun de ces paramètres peut être utilisé comme moyen d'étude pour mesurer l'effet de l'insuline.

Ces principes ainsi définis, examinons les différents systèmes de référence tissulaire traduisant l'action de l'insuline sur l'utilisation du glucose.

a) Les méthodes in vivo

Ces méthodes in vivo ont été les premières utilisées pour mesurer l'activité insulinaire (70), aussi appelée activité insulino semblable ou (insulin-like activity) I L A.

En 1922, peu après la découverte de l'insuline, la première définition de l'unité d'insuline a été donnée comme :

" Le nombre de cm³ qui abaissent la glycémie chez des lapins normaux à 0,045 % en deux à quatre heures".

L'application de ces dosages à des micro quantités d'insuline est beaucoup plus délicate, elle nécessite en effet une préparation de l'animal (hypophysectomie, surrénalectomie, ou les deux) rendant ainsi difficile leur emploi en pratique quotidienne.

La sensibilité et la précision de ces méthodes sont rappelées dans un tableau d'Arquilla (76). Pour Hill et Gohan la préparation la plus sensible est la

souris hypophysectomisée, rendue diabétique par l'alloxane. La quantité minimum d'insuline susceptible d'être ainsi détectée se situe entre 150 et 360 micro unités.

Récemment, Rafaelsen a considérablement accru la sensibilité du dosage "in vivo" à la suite d'étude sur l'effet de l'insuline, injectée par voie péritonéale, sur l'incorporation du glucose marqué dans le glycogène du diaphragme du coeur et du foie et dans la graisse épидидymaire ou sous scapulaire du rat (109).

D'une manière générale, on peut dire que ces méthodes in vivo ont de gros inconvénients qui sont principalement le fait qu'elles sont compliquées, qu'elles prennent beaucoup de temps et qu'elles sont peu précises.

Les moyens utilisés pour augmenter la sensibilité de l'animal sont cause d'une mortalité élevée. Les méthodes in vivo sont de moins en moins utilisées pour la détermination du taux d'insuline plasmatique.

b) Les méthodes in vitro

Les tissus mis en présence du glucose sont le siège de réaction biochimiques multiples obéissant en partie et de façon plus ou moins importante à l'influence de l'insuline (119 - 85).

Les réactions les plus susceptibles d'être modifiées par l'adjonction de quantités croissantes d'insuline, les plus faciles à détecter et à mesurer ont été retenues comme critère de l'activité insulinique. Il est donc nécessaire de rappeler rapidement l'action de l'insuline sur le métabolisme des tissus isolés.

Les critères d'activité insulinique

1° Critère d'action concernant le métabolisme du glucose dans les tissus musculaires et adipeux.

L'insuline agit sur la membrane cellulaire selon un mécanisme discuté (110) avec pour conséquence une diminution du sucre extra cellulaire par fixation du

glucose dans le muscle (II2 - I39) et le tissu adipeux (94 - II5), donnant lieu de façon irréversible au glucose - 6 - phosphate, entrant dans le pool des hexoses monophosphates.

2^e Critère d'action insulinique concernant la synthèse du glycogène
par l'activation des enzymes favorisant le transfert des résidus glucosés de l'uridine diphosphoglucose sur le glycogène. Ce dernier phénomène est particulièrement observé au niveau du muscle, et donc utilisé par la méthode du diaphragme de rat ou de souris. Elle consiste à incuber un morceau de diaphragme dans une solution glucosée à laquelle on ajoute de l'insuline. On mesure grâce à l'utilisation de glucose marqué la captation totale de la radio activité par le muscle. Moody et Felber dosent la quantité de glucose $-C_{14}$ transformée en glycogène C_{14} .

3^e Critère d'action insulinique concernant la synthèse des triglycérides à partir du glucose. Voie métabolique existant dans le muscle, mais beaucoup plus important au niveau du tissu adipeux où les triglycérides représentent 99 % des lipides. Le glucose peut être oxydé en CO_2 , incorporé en longue chaîne d'acides gras et transformé en glycérol (I43). Tous ces phénomènes, définissant l'activité de base du tissu adipeux sont stimulés nettement par l'addition d'insuline. Ces faits sont à la base de la méthode dite de graisse épидидymaire du rat de Martin Dagenais et Renold (94 - II5).

On fait incuber du tissu adipeux épидидymaire de rat dans une solution de glucose C_{14} additionnée d'insuline et on mesure la quantité de CO_2 marquée libérée par le tissu adipeux. Quel que soit le système de référence tissulaire utilisé pour doser le pouvoir insulinique du plasma. La valeur des résultats dépend d'un certain nombre de facteurs :

- a) les conditions de recueil des tissus doivent être particulièrement strictes.
- b) la composition ionique du milieu d'incubation. Le plus souvent

il s'agit d'un tampon physiologique du type "Krebs Ringer ou Gey et Gey's" équilibré dans une atmosphère d'oxycarbonate (95 % O_2 , 5 % de CO_2) ou dans du sérum.

La concentration de glucose du tampon a été ajustée au préalable à un certain taux (200, 250 ou 300 mg/100 ml) par ex.

L'addition de gélatine à 1 % dans le milieu, permet d'éviter l'absorption de l'insuline et sa disparition par fixation non spécifique aux parois du récipient.

c) La durée maximum de l'action insulinique est fonction du système choisi.

Dans tous les cas, la mesure de l'activité insulinique (I L A) se fait par comparaison entre l'activité donnée par un sérum et celle donnée par un tampon contenant une concentration connue d'insuline.

1° D'une manière générale les résultats obtenus pour un sérum donné varieront beaucoup suivant la méthode de détermination utilisée.

2° Ces méthodes ne sont pas spécifiques étant donné qu'elles sont sensibles à toutes les substances contenues dans le sérum qui agissent soit en améliorant la pénétration du glucose, soit en inhibant cette pénétration, substances qui ne sont pas encore bien connues mais qui semblent jouer un rôle important, dans certains cas ; l'action des acides gras a été particulièrement étudiée par Felber et Moody (68).

3° La dilution du sérum modifiera l'équilibre entre les différents constituants d'autant plus que le taux du glucose est maintenu constant. Il en résultera une modification de l'activité insulinique des sérums à mesurer. Cet effet de dilution est très marqué lorsque le tissu utilisé est le diaphragme. Il l'est un peu moins pour le tissu adipeux.

Plusieurs auteurs ont cherché à rendre la méthode plus spécifique en comparant l'activité-insulinique des sérums en présence et en l'absence d'antisérum anti-insuline. La différence entre les deux valeurs représente l'activité insulinique sensible aux anticorps. Elle est appelée activité insulinique supprimable par les anticorps (ou typique) et a été l'objet des travaux de Froesch et de Samaan (70 - 120).

Nous y reviendrons au cours de la discussion et de la critique des résultats obtenus par les différentes méthodes de dosage.

Enfin il convient de signaler une méthode biologique in vitro différente de toutes les autres, c'est celle décrite par Manchester, Randle et Young (93). Elle utilise l'incorporation non plus de glucose mais de glycine marquée dans le diaphragme de rat.

En conclusion, si les tests biologiques n'offrent que peu de précision et de spécificité dans les mesures et ont tendance à être remplacés par les tests radio immunologiques, leur intérêt essentiel réside dans le fait qu'il s'agit de méthodes réalisables dans des laboratoires non spécialisés en techniques isotopiques et ils fournissent des indications sur l'activité biologique de l'insuline que ne peuvent pas donner les tests immunologiques. Par ailleurs ils peuvent permettre d'approfondir certains mécanismes d'activation ou d'inhibition insulinique ; ainsi que l'activité concurentielle de divers intermédiaires biochimiques.

B- METHODES IMMUNOLOGIQUES DE DOSAGE DE L'INSULINE

Le développement des méthodes immunologiques (8 - 5) est un progrès considérable, car ces méthodes apportent

- la spécificité
- la précision
- la possibilité de faire de grandes séries de détermination que

n'offrent pas les méthodes biologiques.

Le principe fondamental de ces méthodes est que l'injection d'insuline à l'animal ou à l'homme peut donner lieu à la formation d'anticorps anti insuline (I26-I25).

Il ne s'agit d'ailleurs pas de méthodes de dosage spécifique à l'insuline, mais aux hormones en général et des travaux du même type ont été effectués sur l'hormone somatotrope, la parathormone, le glucagon, etc...

Les principales techniques qui sont utilisées sont :

1^o Celle de l'inhibition de l'hémagglutination qui est la première en date.

2^o Celle du déplacement isotopique appelée aussi radio immunologique qui tend à remplacer la première.

a) Méthode d'inhibition de l'hémagglutination

Elle est basée sur l'observation que des érythrocytes que l'on a recouvert d'une couche d'antigène vont s'agglutiner lorsqu'ils sont mis en présence d'anticorps spécifique.

Principe de la méthode :

Les érythrocytes de mouton sont :

1^o Immergés dans une solution d'acide tannique dilué.

2^o Dans une solution d'antigène (l'insuline par ex.). Tannés et enduits de l'hormone, les érythrocytes resteront en suspension dans une solution d'un tampon.

3^o Si le tampon est additionné d'anticorps dirigés contre l'antigène, l'insuline en l'occurrence, une hémagglutination se produira.

4^o On pourra empêcher cette hémagglutination de se produire en

neutralisant auparavant les anticorps par l'addition d'un antigène approprié, et c'est ce qui est utilisé comme moyen de mesure. Cette méthode a été développée pour la mesure de l'insuline par Stavitsky et Arquilla.

En pratique, on prépare des séries de tubes contenant une concentration donnée d'anti sérum anti insuline et des concentrations croissantes d'insuline. On y ajoute des hématies tannées recouvertes d'insuline. Lorsque la concentration d'insuline du milieu d'incubation est suffisante, pour neutraliser les anticorps, il ne se produira pas d'hémagglutination, mais lorsque cette concentration devient trop faible, l'hémagglutination commence à se produire. C'est ce point où l'hémagglutination cesse d'être inhibée qui est utilisé pour la mesure de l'insuline.

Cette méthode, bien qu'encore en usage, a tendance à être remplacée par les dosages radio immunologiques qui offrent une précision plus grande et qui permettent l'examen simultané d'un plus grand nombre d'échantillons.

b) La méthode de dosage radio immunologique la plus couramment employée fait l'objet du chapitre suivant.

VI

LE DOSAGE RADIO IMMUNOLOGIQUE DE L'INSULINE ^(x)

THEORIE

Le dosage est basé sur la liaison spécifique entre insuline et anticorps anti-insuline. L'insuline, iodée avec du I 131, est liée aux anticorps et peut être déplacée par l'addition d'insuline non marquée. La radioactivité du complexe insuline-anticorps est donc proportionnelle au rapport entre l'insuline marquée et l'insuline non marquée.

Dans ce dosage, on utilise un sérum anti- γ -globulines du lapin pour séparer le complexe insuline-anticorps du reste du système.

Le sérum anti- γ -globulines du lapin donne un complexe avec les anticorps du cobaye et de ce fait avec le complexe insuline-anticorps qui devient précipitable. La filtration sépare l'insuline libre de l'insuline liée aux anticorps.

Si l'on mélange une solution de l'insuline I 131, concentration $2i_0$ et activité spécifique x , avec le même volume de tampon ou d'une solution de l'insuline non marquée (de concentration $2i$), la concentration de l'insuline marquée serait dans chaque cas i_0 .

Dans la présence de l'insuline non marquée, l'activité spécifique serait diminuée à :

$$\frac{x \cdot i_0}{(i_0 + i)}$$

(x) Dosage immunologique : Méthode décrite ici par MOODY (J.) - JUNG (S.) - SCHNEIDER (U.) - Selon HALES et RANDLE

Donc l'activité spécifique varie avec la valeur i ; en mesurant l'activité spécifique, on peut déduire la concentration de l'insuline non marquée.

Dans le dosage immunologique, on utilise le système anticorps-anti-globulines afin d'obtenir un échantillon constant de l'insuline dans le système. L'insuline dans le système doit toujours être en excès des anticorps ; c'est-à-dire que l'insuline liée aux anticorps est indépendante de la concentration de l'insuline.

Courbe idéale

ayant :

C_o = radioactivité du complexe anticorps en absence de l'insuline non marquée.

C_i = radioactivité du complexe en présence de l'insuline non marquée.

I_o = concentration de l'insuline marquée sur les anticorps en absence de l'insuline non marquée.

I_i = concentration de l'insuline marquée sur les anticorps en présence de l'insuline non marquée.

$$\frac{I_o}{I_i} = x \cdot \frac{i_o + i}{i_o} = \frac{i}{i_o} + 1$$

$$C_o = x \cdot I_o$$

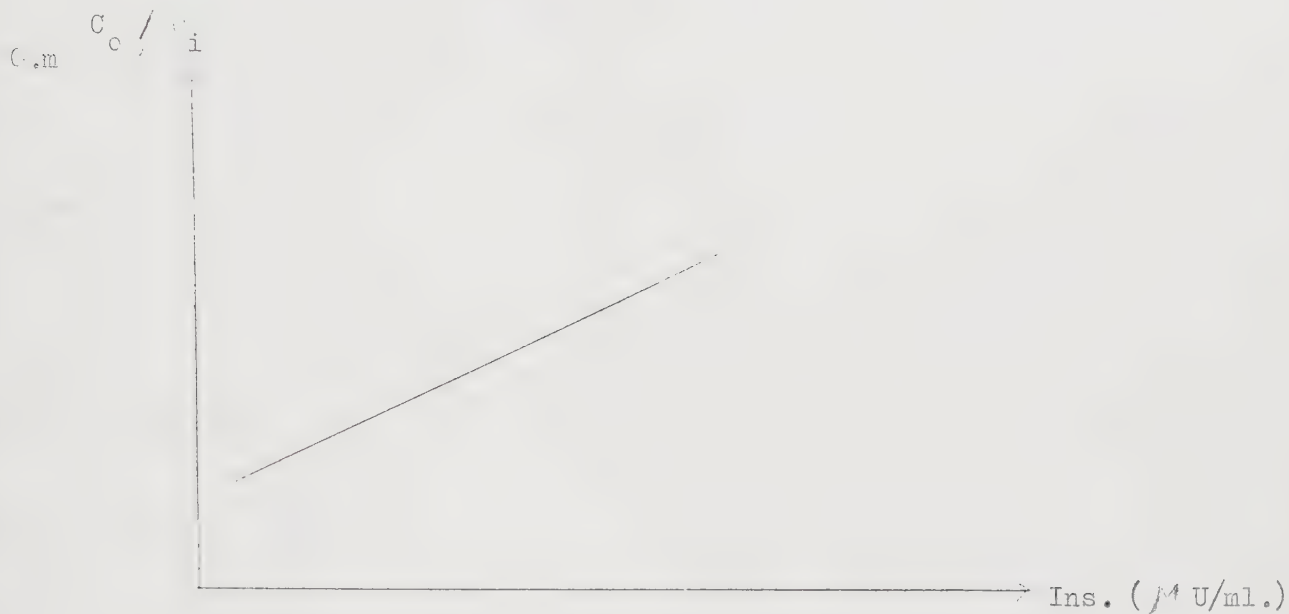
$$C_i = x \cdot I_i$$

donc :

$$\frac{C_o}{C_i} = i \cdot \frac{1}{i_o} + 1$$

C_o/C_i est une fonction linéaire de i , et C_o/C_i est égal à 1 quand i est égal 0.

La pente de la courbe C_o / C_i est donnée par : $1/i_o$



Si l'on peut trouver des conditions telles que cette courbe linéaire soit possible, l'erreur dans le dosage même est calculable.

Après calcul de la courbe par la méthode des moindres carrés, on calcule la valeur pour r et ensuite le λ .

Le calcul des erreurs et des limites de confiance est ensuite fait selon Bliss. ("Statistics of Bioassay")

Pour la routine, il n'est pas nécessaire une fois que les bonnes conditions sont établies, de faire la conversion en ligne droite.

Un graphique représentant la relation des coups par minute sur le filtre et la concentration de l'insuline non marquée donne une courbe parabolique qui permet de déduire la concentration de l'insuline dans les échantillons inconnus.



MATERIEL ET METHODES

1) Solutions

Tampon A : on emploie un tampon phosphate 0.04 M pH 7,4 préparé comme suit :

81 ml. de 0,2 M Na_2HPO_4

ad. 500 ml. eau bidist.

19 ml. de 0,2 M NaH_2PO_4

a. $\text{Na}_2\text{HPO}_4 + 2\text{H}_2\text{O}$

Poids mol. 178.0

35,6 g. dans 1 litre

b. $\text{NaH}_2\text{PO}_4 + 2\text{H}_2\text{O}$

Poids mol. 156,03

31,206 g. dans 1 litre

Pour éviter une contamination microbienne, on ajoute au tampon A du Thiomersal (125 mg. ad 500 ml.). Ce tampon se conserve à 4°C très longtemps. Le tampon doit être préparé avec de l'eau bidist. fraîchement préparée.

Pour le dosage même, on prépare à partir du tampon A deux différents tampons B & C, préparés comme suit :

Tampon B : tampon A + 1 mg./ml. albumine bovine

Tampon C : tampon B + 0,9 g. /% NaCl

Vérifier le pH de chaque tampon après préparation.

Le tampon avec l'albumine sert à éviter une perte de l'insuline dans les hautes dilutions.

Le tampon avec NaCl 0,9 % est utilisé pour les dilutions de la courbe standard, afin d'obtenir un milieu physiologique.

Il est aussi possible que l'augmentation de la force ionique change la solubilité du complexe.

2) Courbe standard de l'insuline

Partant de l'insuline stock (1 mg./mL dans 0,3 M HCl), on emploie les dilutions suivantes :

5	25	50	75	100 micro unités / ml.
---	----	----	----	------------------------

On dilue l'insuline stock selon son activité spécifique, actuellement 24.16 U/mg. c'est-à-dire prendre 0,27 ml. ad. 5 ml. pour obtenir une solution de 1 U/ml.

De cette concentration, on fait les valeurs indiquées ci dessus.

Diluer avec du tampon C.

Les dilutions pour 10^6 , 10^4 , et 10^2 μ U/ml. sont préparées dans des ballons jaugés alors que les dilutions plus élevées sont faites comme suit :

	<u>100 U/ml</u>		<u>Tampon C</u>
75 μ U	1,5 ml.	+	0,5 ml.
50 μ U	1,0 ml.	+	1,0 ml.
25 μ U	0,5 ml.	+	1,5 ml.
5 μ U	0,1 ml.	+	1,9 ml.

3) Préparation des anticorps

Préparer une émulsion contenant 0,5 mg. insuline de boeuf dans 0,2 ml. de tampon phosphate et 0,2 ml. d'adjuvant de Freund complet.

Injecter 0,1 ml. dans les quatre cuisses du cobaye. Répéter toutes les deux semaines, en tout quatre fois. Trois ou quatre jours avant la prise de sang, injecter 0,5 mg. insuline dans du tampon phosphate sans Freund. Prélever le sang par ponction cardiaque.

Préparer le sérum et le garder à -20°C . On peut également le garder dilué 100 fois dans un tampon phosphate (tampon B).

Dans ce cas, on divise les anticorps en échantillons de 1 ml. et on dégèle un seul échantillon pour chaque essai.

Toutes les dilutions des anticorps doivent être faites dans le tampon B.

4) Préparation des anti- γ -globulines

Préparer des γ -globulines de cobaye par précipitation du sérum à 4°C . avec une solution saturée de sulfate d'ammonium. Mélanger 1 volume de sérum avec un volume de NaCl 0,9 %. Y ajouter 2 volumes du sulfate d'ammonium saturé, lentement

goutte à goutte en remuant continuellement. Laisser reposer 20 minutes et centrifuger ensuite à 10.000 g. Dissoudre le précipitat dans 0,9 % NaCl et ajouter 1 volume de sulfate d'ammonium saturé. Centrifuger et répéter encore une fois. Dialyser contre de l'eau et ensuite lyophiliser.

Immuniser les lapins par 10 piqûres de 10 mg de γ -globulines dans 1 ml. de Freund à 50 % (dilué avec NaCl 0,9 %). Faire deux fois par semaine des injections intramusculaires dans les cuisses.

Prendre le sang par ponction cardiaque 3-4 jours après la dernière immunisation. Garder les anti- γ -globulines non dilués à -20°C .

Toutes les dilutions des anti- γ -globulines se font avec le tampon B. anticorps et anti- γ -globulines de Burroughs Wellcome.

5) Etablissement des concentrations optima des anticorps et des anticorps anti- γ -globulines

Pour les anticorps et anti- γ -globulines provenant de Burroughs Wellcome, suivre les dilutions indiquées.

Comme on l'a vu dans la section théorique, cet essai est basé sur l'hypothèse suivante : les anticorps sont saturés avec l'insuline et les anti- γ -globulines fixent toujours la même concentration d'anticorps. En plus, on a vu que pour l'insuline dans le sérum, les valeurs peuvent varier avec la concentration des anti- γ -globulines. Pour chaque nouveau lot d'insuline marquée, il est nécessaire d'établir à nouveau les concentrations d'anticorps produisant une courbe standard proche de l'idéal. On fait des courbes standards avec des dilutions d'anticorps variant entre 1/7500 et 1/30000. Les standards les plus utilisés sont 0 et 100 U d'insuline selon indications de puissance et un sérum. On utilise une solution d'anti- γ -globulines à 1/12. Après le dosage, il faut calculer les valeurs des courbes C_0/C_1 sur i. On doit choisir comme concentration d'anticorps la concentration qui donne la courbe la plus droite et la plus raide.

Pour établir la puissance des anti-y-globulines non calibrés, on procède de même qu'avec les anticorps. Il faut choisir la concentration d'anticorps qui donne les résultats les meilleurs et on emploie cette concentration d'anticorps pour la courbe standard mais en variant la concentration des anti-y-globulines entre 1/5 et 1/25.

Il n'est pas nécessaire de faire des courbes d'anti-y-globulines et d'anticorps avec chaque série d'insuline, mais seulement lorsqu'on utilise des nouveaux anti-y-globulines ou des nouveaux anticorps.

5) Préparation de l'insuline marquée à l'iode 131.

L'iode 131 (Code IBS 3 de Amersham) est oxydé en iodure + par la chloramine T. L'insuline est mélangée avec le iodure 131 et l'incubation terminée après une minute par addition de métabisulfite de soude. Ensuite, l'insuline marquée est séparée de l'iode libre sur colonne. (Soit du Sephadex G-25 en tampon phosphate, soit du Dowex Retardion 11A8).

Solution pour le marquage

1. - IBS IO 1 (à peu près 2 mC).
2. - Chloramine T. 40 g dans 10 µl tampon phosphate 0.04 M pH 7,4
3. - Insuline 25 g dans 25 µl tampon phosphate
4. - Métabisulfite de soude :
120 µg dans 100 µl tampon phosphate.

Après la purification de l'insuline, la solution est diluée à 20 ml. avec du tampon B. L'insuline est divisée en échantillons d'à peu près 1 ml. et gardée à - 20°C.

La purification par les méthodes citées ci-dessus, permet d'obtenir un rendement d'à peu près 10 g de protéine marquée. La concentration de l'insuline stock est donc de 500 µg/ml. Pour chaque dosage, on prend l'échantillon du stock pour le diluer au taux d'insuline désiré. Après chaque dosage, on jette l'insuline non utilisée.

Insuline marquée d'Amersham

L'insuline marquée d'Amersham est livrée dans des flacons, dont chacun contient 1.0 ml de 0.1 µg/ml. insuline marquée. Les stocks non-dilués doivent être gardés à -20°C . L'insuline marquée sera diluée 40 fois avec le tampon B avant l'emploi. Garder les solutions diluées à -20°C .

Pureté de l'insuline marquée

Avant le commencement d'une série de dosages, il est nécessaire de vérifier la pureté de l'insuline marquée. 5 µl de l'insuline du stock est appliquée sur cellulose acétate pour l'électrophorèse. L'électrophorèse est d'une durée de 2 heures à 160 volts dans du tampon Oxoid ; tampon Veronal + Barbitol + acetate de soude, pH 8,6.

Technique du dosage.

Le dosage se fait par quatre différentes opérations :

- a : La préincubation
- b : L'addition des échantillons inconnus et de la courbe standard
- c : L'addition de l'insuline marquée
- d : Filtration.

Tout ce système a été développé par Hales et Randle.

L'horaire du dosage :

Temps zéro	-----	préincubation
+ 18 heures	-----	incubation
+ 26 heures	-----	addition de l'insuline I 131
+ 42 heures	-----	filtration

Toutes les mesures de volumes et les pipetages doivent être effectués

avec le maximum de précision. Les incubations sont faites dans de petites éprouvettes d'une contenance d'à peu près 1,5 ml. Après chaque addition, il faut bien mélanger les milieux d'incubation en utilisant un Vortex Mixer.

La filtration est effectuée sur filtres Oxoïd d'un diamètre de 2 cm. La radioactivité retenue par les filtres est comptée dans un appareil Gas flow (Nuclear Chicago).

a) Préincubation

Une préincubation de 18 heures doit être préparée avec des anticorps et anti-y-globulines. Mélanger un volume de sérum anti-insuline (dilué dans NGPS (1) 1:5000 et selon les indications préliminaires) avec un volume de sérum anti-y-globulines (dilué dans tampon B et selon les dosages préliminaires). Pour chaque échantillon en double, pipeter 0,1 ml. de ce mélange (avec seringue Hamilton) dans de petites éprouvettes. Laisser à 4°C pour 18 heures.

b) Addition des échantillons -incubations.

Chaque dosage doit contenir les échantillons suivants :

- 1.) 0,1 ml. du mélange anti-y-globulines + anticorps + 0,1 ml tampon B + 0,1 ml de l'insuline marquée.
- 2.) Les valeurs désirées pour la courbe standard
- 3.) Les échantillons inconnus
- 4.) 0,1 ml de l'insuline marquée + 0,1 ml. tampon B + 0,1 ml. tampon C
- 5.) Une planchette de 0,1 ml. de l'insuline marquée.

Tous ces échantillons doivent être faits en double.

Les coups par minute donnés par 1 représentent la valeur pour C₀.

La valeur donnée par 4 est le bruit de fond du dosage, c'est-à-dire l'insuline qui se fixe sur les filtres. Si le bruit de fond dépasse 10 % de l'insuline totale (5), la cause peut en être aux filtres ou à l'insuline marquée qui est mauvaise.

Après 18 heures de préincubation, on ajoute pour la courbe standard 0,1 ml. de chaque point standard et pour les échantillons inconnus 0,1 ml. de chaque sérum.

Bien mélanger et laisser à 4°C pour 6 Heures.

c) Addition de l'insuline marquée

Ajouter à chaque échantillon 0,1 ml. de l'insuline marquée.

L'insuline marquée doit être diluée à 2,5 μ g/ml. avec tampon B.

Bien mélanger les tubes et les laisser 16 heures à 4°C.

d) Filtration

La filtration se fait sur les filtres Oxoïd, diamètre 2 cm.

Pour tremper les filtres :

Diluer du sérum (de boeuf, cheval) 1 : 3 avec du tampon phosphate.

Faire flotter les filtres un par un sur ce liquide, avec la surface lignée en haut

Tremper les filtres entièrement après 30 secondes. Les filtres peuvent être gardés 6 - 10 heures à 4°C.

Mélanger les éprouvettes sur le Mixer et transférer le contenu sur les filtres au moyen d'une pipette Pasteur.

Laver le tube deux fois avec 1 ml. de sérum de boeuf dilué qu'on transfère également sur le filtre. Enfin, coller les filtres sur des rondelles de carton en utilisant une solution de "Dunlop Rubber".

Mettre les échantillons dans une étuve à 80°C pour les sécher, ceci pour une demi-heure.

Compter au compteur Gas Flow.

Calcul et présentation des résultats

Pour chaque échantillon, déduire le bruit de fond du dosage.

Tirer la courbe standard (en forme parabolique) et comparer pour chaque inconnu, la moyenne avec cette courbe afin de calculer la valeur de l'insuline.

Excepté dans le cas où la conversion en ligne droite a été faite, arrondir à 5/4 U tous les résultats.

VII

COMPARAISON DES VALEURS OBTENUES PAR LES DIFFERENTES METHODES

Insuline - Activité insulinique

Si nous comparons les résultats obtenus, sur un même sérum, par les différentes méthodes de dosage actuellement utilisées, nous constatons à première vue des différences importantes. De ce fait, une comparaison entre différents laboratoires n'aura de valeur qu'en utilisant des conditions d'expériences identiques (51-57-19).

Les valeurs les plus basses sont données par la méthode radio-immunologique. Chez le sujet sain, c'est à dire

de poids normal

n'ayant aucune maladie, et notamment pas de diabète

ni d'obésité (19),

les valeurs légèrement différentes d'un auteur à l'autre, se situent entre 10 et 20 /ml.

Les autres méthodes donnent des chiffres variables suivant le protocole utilisé, mais toujours très nettement supérieurs.

Pour tenter d'élucider la raison de ces divergences et des apparentes contradictions, un certain nombre de faits doivent être pris en considération.

1° - La précision et la spécificité des méthodes radio-immunologiques

2° - La notion de facteurs inhibiteurs ou antagonistes de l'action biologique

3° - La notion de substances anti-insuline

4° - L'existence possible de plusieurs formes d'insuline circulante

5° - L'existence de substances autres que l'insuline et ayant une activité biologique "Insulin-like".

D'une manière générale, on peut dire que les méthodes biologiques ont toutes pour principe de comparer dans une voie métabolique donnée l'effet biologique d'un échantillon de plasma à celui d'une quantité connue d'insuline. Ces méthodes ne mesurent pas l'insuline vraie du plasma mais ce qu'il convient d'appeler l'activité insulinique (94 - 7).

Les méthodes immunologiques et radio-immunologiques sont plus spécifiques, et permettent de parler de taux plasmatique d'insuline.

L'activité insulinique du plasma ou activité insulino-semblable, insulin-like-activity (70 - 51), ne représente qu'un résultat. Une partie de cette activité est certainement due à l'insuline du plasma mais il existe d'autres substances circulantes capables d'influencer le métabolisme des tissus, dans le même sens que l'insuline ou dans le sens opposé, ce qui explique en partie les divergences de résultats entre les différentes méthodes.

On peut tenter de se faire une idée des autres facteurs intervenant dans l'activité insulinique du sérum, en soumettant ce dernier à l'action d'un anticorps anti-insuline (120 - 117), on constate qu'une partie seulement du pouvoir insulinique est inhibé par l'anticorps. On a donné à cette fraction inhibée le nom d'insuline supprimable (70-120). On peut en conclure que le sérum conserve une activité due à ce qu'on appelle actuellement "insuline non supprimable".

Cette insuline non-supprimable, en quoi consiste-t-elle ?

Il est possible que l'activité insulinique non supprimable ne soit due qu'à l'activité de substances insulino-semblables (hormones par exemple), mais il est

possible aussi qu'il s'agisse d'insuline incapable de réagir avec les anticorps dirigés contre elle.

C'est pourquoi nombre d'auteurs, au premier rang desquels il faut citer Antoniades, ont admis l'identité entre insuline non supprimable et insuline liée (3).

Cette hypothèse envisagée pour expliquer les divergences observées entre les résultats fournis par les tests biologiques et immunologiques, a été en partie démontrée par les expériences d'Antoniades, et ses collaborateurs, qui séparent les deux formes d'insuline circulante par passage sur une résine échangeuse de cations (Dowex) au pH physiologique.

Ils ont montré :

qu'une partie de l'activité insulinique se retrouve dans le liquide non retenu par la colonne, c'est l'insuline libre

Une partie est absorbée dans la colonne, liée à des protéines basiques, dont elle pourra être libérée par diverses manipulations.

L'auteur pense que le rapport entre l'insuline libre et l'insuline liée serait donc essentiel, et que d'autre part l'insuline est sécrétée par le pancréas à l'état libre, et peut être liée secondairement au niveau périphérique. Il existerait à chaque instant un équilibre entre les deux formes d'insuline et la valeur de la glycémie.

En résumé, si la réalité d'une forme liée de l'insuline semble démontrée, bien que certains auteurs la nient totalement, on s'interroge encore sur sa signification, sa valeur biologique in vivo et son rôle possible dans la pathogénie du diabète (131).

Cette remarque explique au moins en partie les valeurs différentes données par les méthodes biologiques d'une part, et les méthodes immunologiques dont nous avons déjà mentionné la spécificité d'autre part.

VIII

RESULTATS

Les résultats publiés par les divers auteurs (56 - 89) que nous avons consultés sont dans l'ensemble comparables de l'un à l'autre. Les chiffres qui sont cités ici ont été extraits des publications de BERMOND, ils se réfèrent à des dosages radio-immunologiques (19).

154 contrôles ont été effectués par lui, jusqu'ici, contrôles concernant :

- soit des individus normaux d'apparence
- soit des individus dans des conditions homéostasiques défavorables, les obésités et les diabètes sont le plus souvent étudiés ; bien qu'il ait commencé à explorer d'autres conditions particulières :

- . grossesse
- . hémochromatose, etc..

dont les différents aspects physiopathologiques rendent particulièrement intéressante l'étude de l'insulinosécrétion. Cependant, leur petit nombre autorise encore rarement une conclusion (135).

Résultats en valeur absolue

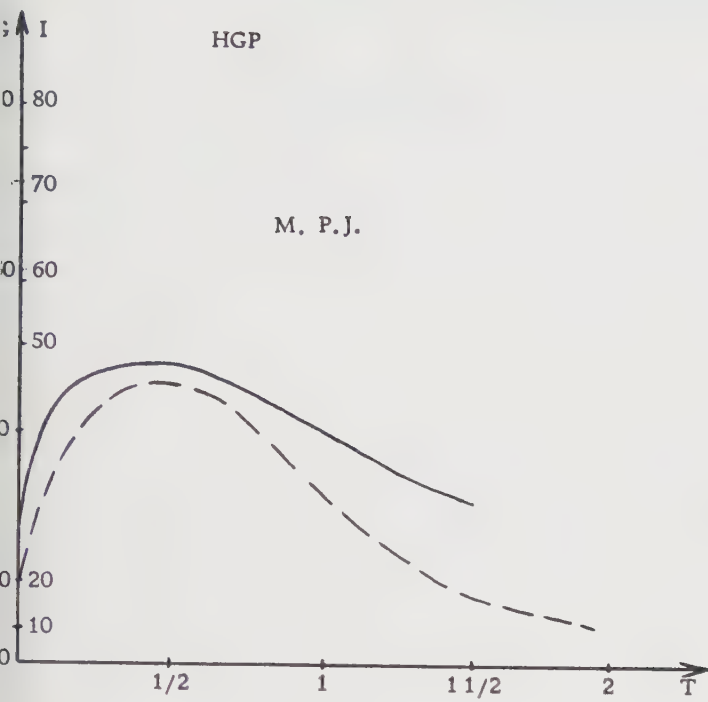
1) Chez le sujet normal, c'est-à-dire :

de poids normal,

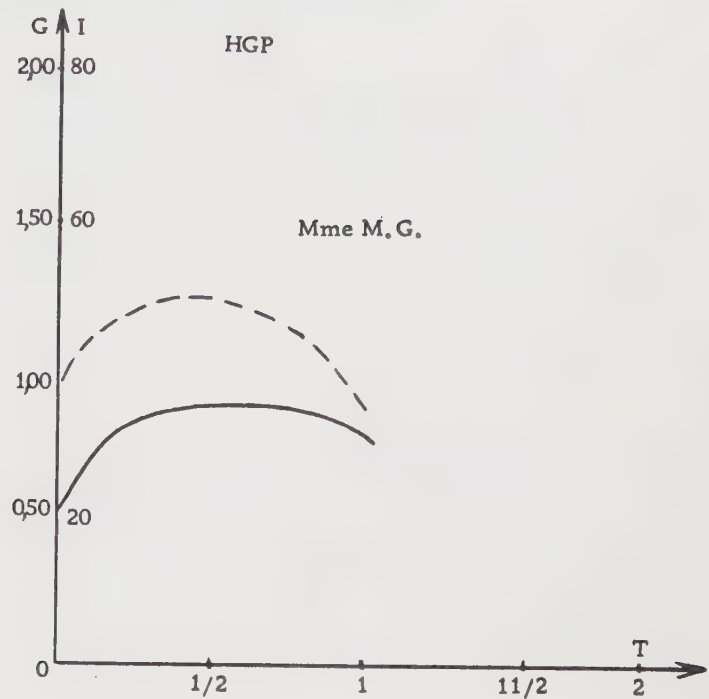
n'ayant aucune maladie et notamment pas de diabète, le taux d'insuline endogène moyen est de

11 μ u/ml de sang chez l'adulte, le matin à jeun.

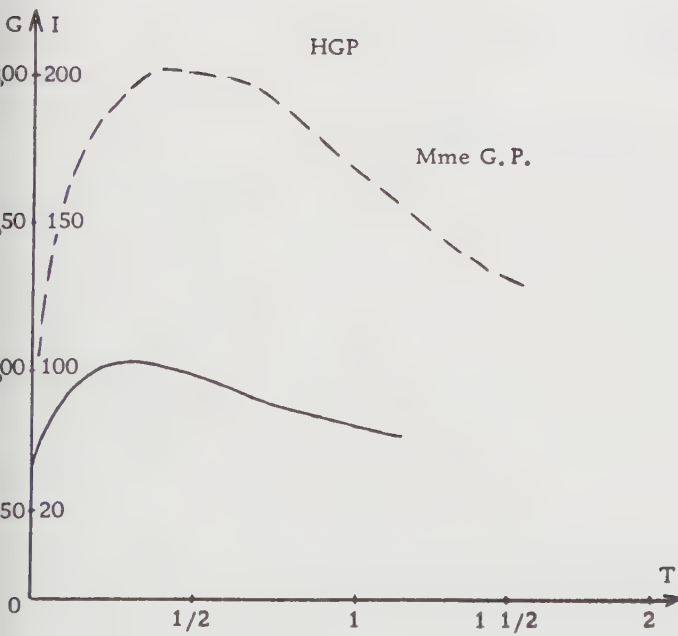
Les chiffres évoluant de 6 à 30 environ.



N.1



N.2



N.3

Evolution de l'insulinémie au cours des épreuves dynamiques

Il est intéressant d'étudier les variations de l'insulinémie toujours chez un sujet normal, au cours d'une épreuve dynamique (H G P par exemple) réalisant ce que l'on pourrait appeler une épreuve d'hyper-insulinémie provoquée. Nous pourrions traduire les résultats obtenus sous la forme de courbes qui donnent les variations

- d'une part de la glycémie en g/l
- d'autre part de l'insulinémie en μ U/ml en fonction du temps

Les graphiques de 1 à 3 montrent qu'en général, le taux d'insuline endogène varie selon une courbe analogue à celle de la glycémie ; il y a parallélisme entre les deux courbes. A l'élévation de la glycémie correspond une élévation de l'insulinémie, laquelle va causer à son tour une baisse de la glycémie qui sera accompagnée d'une chute de l'insulinémie.

2) Chez l'enfant normal

L'insulinémie est assez semblable à celle de l'adulte :

13 μ U/ml, moyenne calculée sur 6 dosages à jeun.

3) Chez le diabétique jeune, et d'une façon plus générale dans le diabète acido-cétosique, quel que soit l'âge du sujet, la sécrétion insulinaire est pauvre ou nulle (86). C'est du moins ce qu'ont démontré les quelques contrôles des cas où l'on avait la chance d'intervenir juste avant l'instauration de l'insulinothérapie, parce que le plus souvent, en effet, ces sujets doivent être très précocément insulinés, excluant ainsi toute possibilité de dosage par la méthode radio-immunologique.

4) Résultats dans diverses maladies :

Chez les obèses - plusieurs éventualités peuvent se présenter. En effet, le "comportement insulinaire" de l'obèse évolue dans le temps, et selon sa résistance langerhansienne constitutionnelle. (135 - 131 - 137)

- Obèse non diabétique

Un obèse apparemment non marqué par la prédisposition diabétique à une insulínémie dans la règle au-dessus de celle du sujet normal.

Nous avons trouvé dans cette catégorie d'individus des chiffres d'insulínémie à jeun dont la moyenne est de 56μ U.

Les chiffres extrêmes variant de 20 à 250 dans les travaux de BERMOND.

Au cours d'une épreuve dynamique (H G P par ex.), une sécrétion exagérée et prolongée peut être mise en évidence. La prolongation de cette sécrétion malgré le retour de la glycémie à la normale est particulièrement frappante. Les premiers résultats à ce sujet ont été publiés par Karam et Coll (81 - 82 - 83).

Mais depuis les données se sont accumulées et montrent qu'il existe une dispersion importante entre les obèses. Certains ont une réponse normale ou supranormale, d'autres un hyper-insulinisme franc.

- Obèses prédiabétiques et diabétiques

Contrairement à la logique, mais selon une opinion déjà avancée par plusieurs auteurs, les chiffres d'insulínémie qui ont été trouvés chez les obèses prédiabétiques ou diabétiques sont en général élevés, non seulement plus élevés que chez les diabétiques non obèses, mais également plus élevés que chez les obèses non diabétiques.

Les moyennes sont :

- pour les prédiabétiques : 91μ U/ml

Les valeurs extrêmes sont de 33 à 150 (Travaux de BERMOND)

- pour les diabétiques obèses : $79,6 \mu$ U

avec des valeurs extrêmes de 15 et 222.

Comportement insulinaire au cours des épreuves dynamiques :

Dans un groupe de 13 diabétiques latents, les courbes de glycémie et d'insulinémie sont trop élevées. Le pic de la glycémie est retardé et la courbe redescend mal. Le parallélisme est grossièrement conservé, mais si l'élévation de la glycémie semble entraîner celle de l'insulinémie, la réciproque n'est plus vraie : pour une insulinémie de cet ordre, on devrait s'attendre à une glycémie beaucoup plus basse. Le défaut d'efficacité insulinaire est donc bien confirmé par ces épreuves.

Dans un groupe de sujets présentant un diabète déclaré, nous avons été amenés à distinguer deux catégories, selon les variations de l'insulinémie en réponse à celles de la glycémie :

- Dans la première catégorie, celle des diabétiques qui répondent à l'élévation de la glycémie par une élévation de l'insulinémie, mais par rapport à la glycémie la courbe d'insulinémie est trop basse, d'autre part par rapport au taux d'insuline relativement élevé, la glycémie est trop haute.

- Dans la deuxième catégorie, celle des diabétiques qui ne répondent pas à l'élévation de la glycémie par une élévation de l'insulinémie, la courbe de l'insulinémie est plate. On est conduit à penser que dans ce cas, ou bien le pancréas donne déjà, dans les conditions basales, toute la mesure de sa capacité sécrétoire, ou bien qu'il est devenu indifférent à la sollicitation hyperglycémique.

L'ensemble des faits observés chez les obèses trouve en partie une explication dans la théorie de la CONTRAINTE et de la DECOMPENSATION PANCREATIQUE.

IX

THEORIE DE CONTRAINTE DIABETOGENE

DECOMPENSATION PANCREATIQUE

COEFFICIENT D'EFFICACITE ENDOGENE

L'avènement des méthodes précises de dosage, telle que la méthode radio-immunologique, a amené des renseignements, voire des confirmations de pressentiments maintes fois publiés. C'est ainsi que :

comme on s'y attendait le diabète maigre à évolution acido-cétosique, a une sécrétion insulinaire pauvre ou nulle.

C'est ainsi également que ces méthodes ont apporté la preuve d'une mauvaise utilisation et d'un gaspillage de l'insuline chez certains sujets diabétiques (135 - 146).

Ceci nous conduit à la notion de CONTRAINTE DIABETOGENE ; nous ne pourrions mieux faire qu'emprunter à BERMOND (18) la théorie qu'il a avancée en 1961 et qui a été depuis confirmée par de nombreux dosages pratiqués par les auteurs dans les différentes méthodes :

Si nous désignons par B les besoins en insuline d'un sujet sain, en équilibre pondéral, déployant une activité normale,

pour de tels besoins, le pancréas du sujet normal sécrète une quantité d'insuline Q équivalente et la glycémie est normale.

On peut alors écrire $Q = B$.

Si les besoins s'accroissent pour une raison quelconque d'une valeur Y, le pancréas est obligé d'augmenter sa sécrétion d'une valeur que nous désignons par X.

La valeur variable Y correspondant à l'accroissement des besoins insuliniques au-delà du niveau normal représente la CONTRAINTE .

Cette augmentation des besoins peut être due à une stimulation diencéphalo-vagale intempestive, et non justifiée par les besoins périphériques. La contrainte est dite VIRTUELLE. Au contraire, elle peut correspondre à une surconsommation ou une inactivation périphérique, la contrainte est REELLE. Etudions maintenant quel sera le comportement pancréatique lors d'une variation de la contrainte.

I - Chez le sujet normal, c'est-à-dire :

- non prédisposé au diabète
- non marqué génétiquement
- en équilibre pondéral et déployant une activité normale :

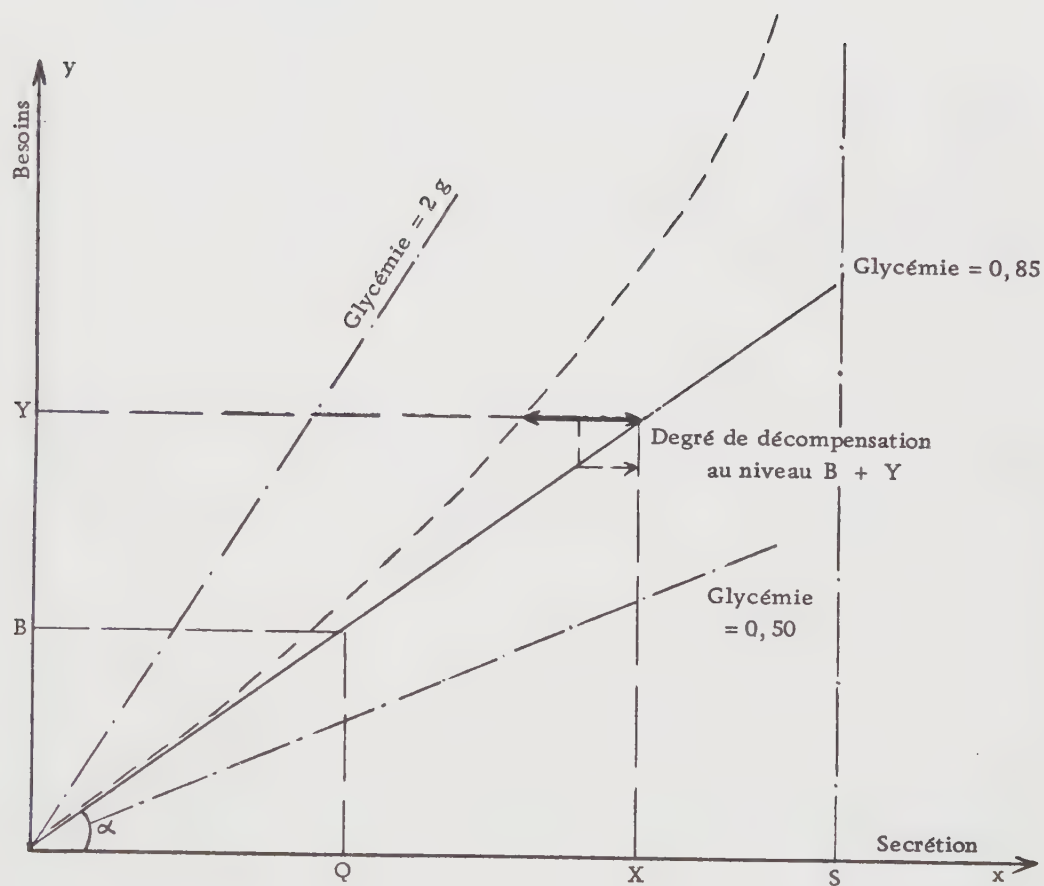
$$\underline{B + Y = Q + X}$$

$$B = Q$$

$$X = Y$$

Chez de tels sujets à tout accroissement des besoins correspond un accroissement équivalent des sécrétions.

En fait dans la réalité, aucun individu ne serait capable de faire face à un accroissement infini des besoins. Et s'il était possible d'accroître expérimentalement les besoins dans des proportions gigantesques on finirait par rencontrer une limite de la réponse que l'on pourrait intituler capacité sécrétoire maximum S.



II - Chez le sujet diabétique par insuffisance pancréatique totale

(diabète maigre, diabète du sujet jeune).

$$Q = 0$$

$$X = 0$$

$$S = 0$$

(Insuline exogène indispensable)

III - Dans le prédiabète

L'équation $B = Q$ est réalisée.

Mais lorsqu'apparaît un besoin accru, le pancréas ayant un débit insulinaire proche de ces capacités limites, élèvera sa sécrétion, mais il ne l'accroîtra que parcimonieusement, C'est ce décalage entre besoin et sécrétion que caractérise la DECOMPENSATION PANCREATIQUE, point sur lequel Folber et Bermond ont déjà insisté à plusieurs reprises.

Ceci aide à comprendre ce qui apparaissait autrefois comme paradoxal, à savoir l'existence de diabètes hypersecrétants. Leur taux insulinaire est supérieur à la normale, mais pas autant que l'exigeraient les besoins de luxe auxquels ils sont soumis.

COEFFICIENT D'EFFICACITE

Lorsque l'insulinémie est normale, il est difficile de dire sur la simple lecture de cette valeur insulinémique s'il s'agit d'un reflet de l'intégrité métabolique ou bien s'il s'agit d'une insulinémie précédemment élevée et évoluant vers l'épuisement.

Par ailleurs, peuvent s'avérer prédiabétiques ou diabétiques aussi bien :

des sujets ayant un taux élevé d'insuline et en état de décompensation pancréatique vis-à-vis des besoins périphériques,

que des sujets dont l'effondrement insulinaire laisse pressentir un épuisement langerhansien.

En résumé, si la glycémie lue isolément indique le taux de décompensation et non le niveau auquel s'opère la métabolisation, la lecture de l'insulinémie brute, donne, elle, une idée de ce niveau, mais non pas le degré de décompensation.

C'est pourquoi quelques auteurs ont proposé des coefficients insulino-glycémiques, permettant de combiner les deux informations.

1^o) L'indice INSULINO-GENIQUE DE SELTZER ET HARRIS (123) est défini par la relation :

$$\frac{I}{G}$$

I étant le taux d'insuline en μ U/ml

G la glycémie en mg/100 ml.

La valeur de ce rapport ne reflète malheureusement pas le degré de décompensation puisqu'elle se trouve déviée dans des sens différents par rapport au sujet normal, suivant qu'il s'agit de prédiabétique obèse, ou de diabétique, alors qu'en matière de décompensation le prédiabétique vient plus logiquement s'insérer entre le sujet normal et le diabétique.

Ce rapport devient plus intéressant lorsqu'il est utilisé pour étudier l'abaissement glycémique provoqué par stimulation pancréatique au tolbutamide intra-veineux. Il faut alors exprimer G en pourcentage d'abaissement glycémique (135).

2^o) Le coefficient d'EFFICACITE DE BERMOND est par contre proportionnel au degré de décompensation (auquel des auteurs comme Felber attachent une grande importance).

Il est égal à

$$E = \frac{G_n^3 (I_n + 10)}{G^3 (I + 10)}$$

Dans lequel :

G_n est la glycémie normale à jeun

I_n est l'insulinémie normale à jeun

G et I étant respectivement la glycémie et l'insulinémie du sujet d'expérience.

Le coefficient idéal a une valeur de 1

Si l'on évalue la glycémie en g/l, et l'insulinémie en μ U/ml, et que par ailleurs on accepte comme valeurs normales à jeun : $G_n = 0,85$ gr% et $I_n = 11 \mu$ U/ml, le numérateur prendra la valeur fixe de 13. Le coefficient, ainsi simplifié devient :

$$E = \frac{13}{G^3 (I + I_0)}$$

et dans ces conditions, il peut encore être considéré comme normal au dessus de 0,40.

Intérêt du coefficient d'efficacité

1° - Considéré isolément il permet d'apprécier dans une certaine mesure le risque diabétique.

2° - En outre, il est intéressant d'étudier son évolution lorsqu'intervient une action expérimentale ou naturelle interférant avec le métabolisme glucidique.

- Action d'un médicament,
- d'un régime,
- d'une maladie intercurrente,
- d'un facteur de contrainte

d'une manière générale, ce qu'on peut intituler "l'épreuve dynamique lente".

Applications

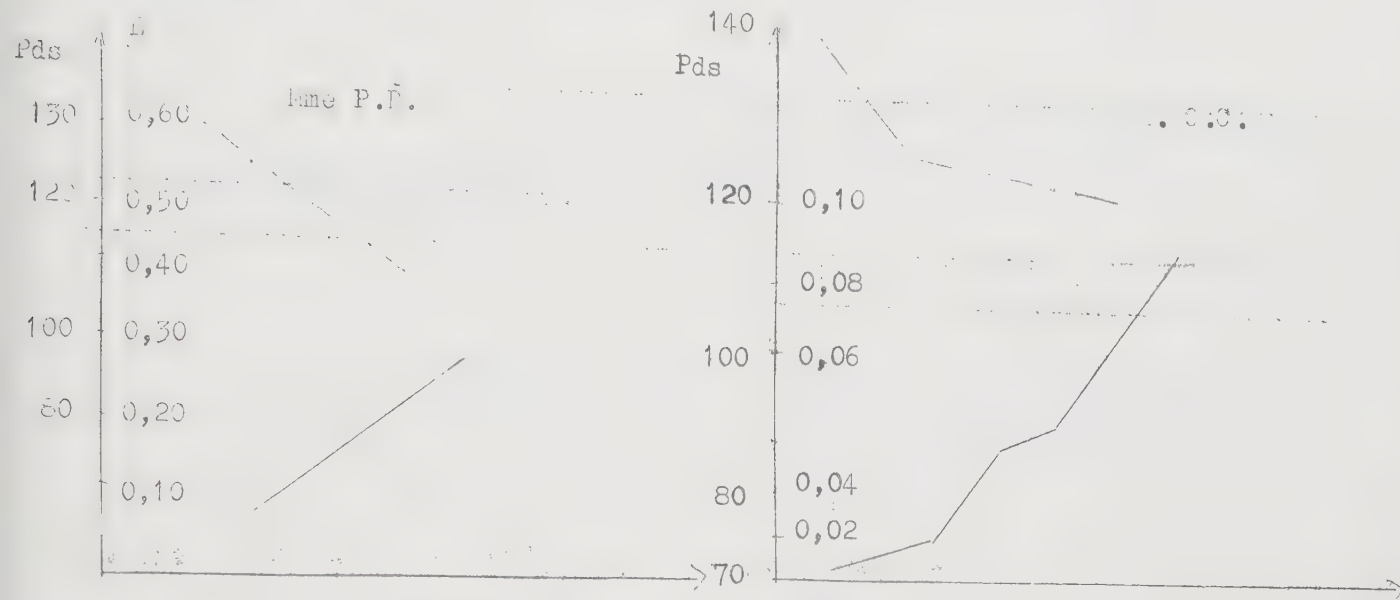
1° - Etude portant sur des effets de contrainte

Dans un groupe d'une trentaine d'individus, les dosages pratiqués par Bermond concernent en grande partie des obésités pour lesquelles insulinémie et glycémie sont étudiées à des intervalles moyens de 6 mois. On fait ensuite la courbe d'évolution du coefficient E en fonction des variations du poids.

Le traitement étant essentiellement orienté sur un aménagement des règles hygiénodiététiques, après chiffrage alimentaire, le régime n'a jamais été standard, mais consista à opérer une réduction suffisante sur les taux caloriques, révélés par l'interrogatoire.

Ce régime a été en général facilité par la prescription d'anorexigène.

Les obèses, qu'ils soient diabétiques, prédiabétiques ou à tolérance glucidique peu perturbée ont vu, après amaigrissement, leur coefficient d'efficacité insulinique s'améliorer, ainsi que montrent deux courbes prises comme exemple.



Par contre, non seulement ce coefficient s'aggrave dans les prises de poids, mais il se dégrade aussi plus ou moins rapidement lorsque l'obèse conserve inchangée sa surcharge pondérale.

2^e Etude portant sur l'effet de certaines médications antidiabétiques à l'exclusion de l'insuline exogène.

a) Les sulfamides hypoglycémiantes :

En ce qui concerne les sulfamides hypoglycémiantes administrés à des sujets de poids normal, ou ayant précédemment maigri par effet thérapeutique et atteints d'un diabète non insuliné, ils apportent une amélioration dans le coefficient d'efficacité de l'insuline endogène.

Par contre, en règle générale, lorsque le diabétique a une surcharge

pondérale importante, la médication sulfamidée aggrave souvent le coefficient ou du moins lorsqu'elle l'améliore, cette amélioration est en général moindre que celle obtenue par la thérapeutique dépletive.

L'évolution clinique mentionnée par plusieurs auteurs confirme que les sulfamides voient leur action s'épuiser dans certains de ces cas, quelles que soient les doses utilisées (104 - 105 - 90).

b) Une étude en cours sur l'action des biguanides montrerait une amélioration du coefficient d'efficacité insulinique quel que soit le niveau pondéral du sujet diabétique.

c) Enfin, l'interférence sur le métabolisme glucidique de médications hyperglycémiantes mérite aussi bien d'être testé par le coefficient d'efficacité. Si des études sont en cours à ce sujet, aucune n'a été encore publiée, mais il y a là un champ d'exploration intéressant.

CONCLUSION

Si beaucoup de points restent non éclaircis dans le domaine de la maladie diabétique, un pas en avant a été réalisé par la mise au point et le développement des méthodes de dosage de l'insuline plasmatique. Sa concentration infime, de l'ordre du microgramme par litre excluant toute possibilité de dosage par les techniques chimiques classiques, on s'est tourné vers les propriétés biologiques de la molécule.

La mise en évidence par Berson et Yalow en 1956 d'anticorps acquis chez les diabétiques traités à l'insuline, a permis à ces chercheurs de mettre au point le dosage immunologique de l'insuline plasmatique.

Des résultats obtenus et des faits recueillis dans les quelques travaux actuellement publiés, se dégagent des notions d'un triple intérêt :

- diagnostic,
- pathogénique,
- thérapeutique.

C'est ainsi notamment que l'on sait :

1 - qu'un certain nombre de diabétiques, notamment des diabètes à début juvénile, évoluant depuis un certain temps, se présentent plus de taux détectable d'insuline dans leur plasma. Ceci confirme l'existence d'une carence absolue en insuline à un stade avancé de la maladie et la nécessité d'un apport d'insuline exogène.

2 - que cette carence absolue en insuline n'est, par contre, pas

constatée au début du diabète, non seulement des diabètes tardifs de sujets souvent obèses, mais aussi de diabètes juvéniles, et dans les cas dits prédiabétiques. De plus un phénomène apparemment paradoxal, mais déjà soupçonné dans certaines circonstances : le diabète avec hyper-insulinisme, qui serait le témoin de l'inefficacité de l'insuline.

A partir de ces constatations, deux hypothèses peuvent être soulevées :

- le diabète, ou du moins certains diabètes, sont des maladies pancréatiques, le pancréas ne réagissant plus, ou mal, au stimulus habituel de l'insulino-synthèse et de l'insulino-sécrétion.

- Le diabète est une maladie métabolique, dont le siège initial est extra-pancréatique, et qui se traduit par une inhibition de l'action de l'insuline, exprimée par un hyper-insulinisme ; c'est la recherche de ce dernier, dès la phase de prédiabète, qui permettra une meilleure prophylaxie de la maladie.

Comment peut on analyser ces deux théories ? A la lumière des renseignements apportés par les dosages insuliniques. Doit-on pour autant conserver l'idée d'une multiplicité étiologique du diabète ? On pourrait dire oui, dans la mesure où certains diabètes s'accompagnent d'une résistance périphérique (contrainte élevée) et d'autres pas.

Oui encore, dans la mesure où une hérédité est retrouvée chez certains et chez d'autres pas.

Mais ces différences apparaissent purement circonstancielles et l'unicité se justifie à nouveau lorsqu'on comprend le phénomène de la décompensation pancréatique, c'est-à-dire la dissociation entre besoin et sécrétion insulinique. La différence entre tous les diabètes n'étant plus alors qu'une question de Niveau. L'existence et la recherche d'étiologies diverses génératrices de cette décompensation

(Hypercorticisme, Hyperpituitarisme, traumatisme, insuffisance héréditaire, etc..) gardant tout son intérêt, sans pour autant justifier un démentellement de la théorie de l'unicité.

Enfin, le dosage de l'insuline plasmatique et l'étude du coefficient d'efficacité insulinique, amènent de précieuses indications, quant à l'évolution d'un diabète sous traitement, par les antidiabétiques oraux. Toutefois la complexité des méthodes limite, du moins pour le moment, leur pratique aux Laboratoires spécialisés.

Vu le Président de Thèse

Vu le Doyen de Faculté

Pr. Henri BOUR

Pr. G. BROUET

Vu et permis d'imprimer

Le Recteur de l'Académie de Paris

J. ROCHE

BIBLIOGRAPHIE

- 1 ANTONIADES (N.H.) - Studies on the states of insulin in blood : the state and transport of insulin in blood.
Endocrinology (1961) 68 7
- 2 ANTONIADES (H.N.) BOUGAS (J.A.) CAMERINI DAVALOS (R.) PYLE (H.M. MAZURKIE (S.J.) LOZANO-CASTANEDA (O) et MARBLE (A) - Insulin regulatory mechanisms and diabetes mellitus. Effect of tolbutamide on the insulin regulatory mechanism. New. Engl. Journ. of Med (1963) 269 - 386 - 390.
- 3 ANTONIADES (H.N.) GUNDERSEN (K) BIEGELMAN (P H) PYLE (H M) BOUGAS (J A) - studies on the state, transport and regulation of insulin in human blood.
Diabetes (1962) 11 261 - 270.
- 4 ANTONIADES (H.N.) BOUGAS (J.A.) PYLE (H.M.) CAMERINI-DAVALOS (R) - Insulin regulatory mechanisms and diabetes mellitus.
Diabetes (1964) 13 230.
- 5 ARQUILLA (E R) STAVITSKY (A B) - The production and identification of antibodies to insulin and their use in assaying insulin.
J. clin. Invest. (1956) 35 458.
- 6 ARQUILLA (E R) - Immunological studies of insulin. Ciba foundation colloquia on endocrinology. Immuno-assay of hormones (1962), 1 vol., J et A Churchilles, Londres 14 156.
- 7 ARQUILLA (E R) ALEXANDER (J D) PTACEK LOOSLI (E S) - "In vivo" bioassay for insulin like activity in diabetes. (1962) table 5 11 417.
- 8 ASSAN (R) - Antigénicité de l'insuline. Pathologie-Biologie (1966) 14 610-618.
- 9 AUBERTIN (E) - Quelques notions nouvelles sur le comportement de l'insuline dans l'organisme normal et diabétique.
Journal de médecine - Bordeaux et Sud Ouest (1964) 141 1468 - 1479.
- 10 AUBERTIN (E) - Les nouvelles méthodes de traitement du diabète.
Journal de médecine - Bordeaux (1961) 138 167 - 191.

- 11 AUBERTIN (E) - Problèmes cliniques actuels de diabétologie.
Journal de médecine - Bordeaux (1964) 141 1480 - 1496.
- 12 AZERAD (E) LESTRADET (H) et ABBOU (R) - Utilisation du glucose par l'organisme diabétique non cétosique. Etude au cours de la perfusion prolongée de solution glucosée.
La presse médicale (1957) 65 1665.
- 13 AZERAD (E) - Le prédiabète, sa signification, son importance dans la prévention du diabète - Journées médicales annuelles - La charité (1965) 228 - 235.
- 14 AZERAD (E) LUBETZKI (J) - Mécanisme d'action de l'insuline (état actuel de nos connaissances) Rein et foie. Maladies de la nutrition.
Actualités (1961) Vittel.
- 15 BANTING (FC) FRANKS (N R) GAIRNS (S) - Anti-insuline activity of serum of insulin treated patients.
Amer. J. Psychiat. (1938) 95 562.
- 16 BASTENIE (P Y) CONARD (V) - Essai d'interprétation des épreuves d'hyperglycémie provoquée.
Revue française d'études cliniques et biologiques (1957) Vol. II 3 223.
- 17 BASTENIE (P A) BELLENS (R) DOOMS (H A) FRANCKSON (J R M) CONARD (V) - Mesure de la réserve d'insuline par l'épreuve intraveineuse aiguë au tobutamide (D. 860) Sté Médicale des Hop. de Paris - Séances des 28 oct. et 4 nov. 1960 P : 1078.
- 18 BERMOND (P) - Facteurs de contrainte diabétogène - Le diabète (1962) 136 - 143
- 19 BERMOND (P) FELBER (P) MOODY (A J) DROPSY (G) BOCHET (J) - L'insulinémie, son évolution, selon les variations de la contrainte pancréatique.
Le diabète (1966) 14 5 -11
- 20 BERSON (S A) and YALOW (R S) - Some current controversies in diabetes research
Diabetes (1965) 14 549 - 572
- 21 BERSON (S A) YALOW (R S) BAUMAN (A) ROTHSCHILD (M A) NEVERLY (K) - Insulin I¹³¹ metabolism in human subjects : demonstration of insulin binding globulin in the insulin treated subjects.
Journ. of clin. invest (1956) 35 170 - 190
- 22 BERSON (S A) YALOW (R S) - Bound insulin : fact, fancy, or phantasy
2nd int congress of endocr London, August 1964 Excerpta Medica Int Congress Series n° 83 - 332 - 337

- 23 BERSON (S A) YALOW (R S) - Immuno assay of plasma insulin - in : Ciba found coll Endoc. London, G E W - Wolsten - Holme and M P Cameroun Edit. (1962) 14 182 - 201
- 24 BERSON (S A) YALOW (R S) - Insulin antagonists, insulin anti-bodies, and insulin resistance - Amer J Med (1958) 25 155 - 159
- 25 BERSON (S A) YALOW (R S) - Recent studies on insulin-binding antibodies - Ann N Y Acad. Sci (1959) 82 338 - 339
- 26 BERSON (S A) YALOW (R S) - The present statues of insulin antagonist in plasma Diabetes (1964) 13 247 - 259
- 27 BERSON (S A) YALOW (R S) - Ethanol Franctionation of plasma and electrophoretic identification of insulin antibody.
J. Clin. Invest. (1957) 36 642
- 28 BERSON (S A) YALOW (R S) - Quantitative aspects of the reaction between insulin and insulin binding antibody.
J. Clin. Invest. (1959) 38 1996
- 29 BERSON (S A) YALOW (R S) - Preparation and purification of human insulin I¹³¹ ; binding to human insulin binding antibodies.
J. clin. Invest. (1961) 40 1803
- 30 BERSON (S A) YALOW (R S) - Antigens in insulin, Determinants of specificity of porcine insulin in man.
Science (1963) 139 844
- 31 BERSON (S A) YALOW (R S) AURBACH (G D) POTTS (J T) - Immuno assay of bovine and human parathyroid hormone.
Proc. nat. Acad. sci (Wash) 1963 49 613
- 32 Berson (S A) YALOW (R S) GLICK (S M) ROTH (J) - Immuno-assay of prokin and peptides hormones.
Metabolism (1964) 13 1135
- 33 BERTHAUX (P) WARGON (H) - Variation de l'activité insulinique du sérum avec l'âge. Rev. franç. Geront (1964) 10 377 - 380
- 34 BISERTE (G) et FOURLINNIE (J Cl) - Exploration du pancréas endocrine - Annale de biologie clinique (1964) 22 1097 - 1120
- 35 BOEUF (G) - Contribution à l'étude du dosage radio-immunologique de l'insuline plasmatique.
Thèse médecine, Marseille (1966) Sous presse

- 36 BOLINGER (R E) BROWN (R W) LUKERT (B P) MONROE (M L) - Insulin like activity in urine of normal and obese subjects.
Metabolism (1965) 14 568 - 577
- 37 BOUDIN (G) DE GENNES (J L) PEPIN (B) BARRAINE (R) SALTIEL (H) - Diabète lipotrophique avec manifestations neurologiques.
Bull. soc. Med. Hôp. Paris (1963) 114 895 - 918
- 38 BOULIN (R) LAPRESLE (C) - L'insulino resistance
Rev. Med. fr. (1956) 37 177 - 180
- 39 BOUR (H) - Cortico-surrénales et diabète sucré.
Journ. Ann. de diabetologie de l'Hotel Dieu 1 vol. (1961) 31
- 40 BOUR (H) - Les bases physiologiques de l'étude du diabète sucré.
Revue médicale de Tours (1960) 8 619
- 41 BOUR (H) TUTIN (M) PASQUIER (P) RIQUOIS (Y) AKHOUNE (M) FENDLER (J P) - Cirrhoses du foie et troubles de la glycorégulation.
Journées annuelles de diabétologie de l'Hôtel Dieu (1964) 1 vol.
Edition Flammarion 208 - 223
- 42 BUTTERFIELD (W J H) - Metabolisme et action physiopathologique des biguanides.
Journées annuelles de diabétologie de l'Hôtel Dieu (1964)
Ed Med Flammarion pp 119 - 154.
- 43 CASSANO (C) SCAVO (D) JACOBELLI (A) - Etude physiopathologique de la fonction corticosurrénale dans l'obésité. Le comportement des corticoïdes glycoactifs et minéralo-actifs.
Ann Endoc Paris (1966) 27 211 - 227
- 44 CHRISTOPHE (J) - Biochimie des obésités expérimentales. In : " l'obésité".
Expansion, edit, Paris (1963) 23 - 76
- 45 CHAPTAL (J) JEAN (R) GUILLAUMOT (R) MOREL (G) - Enregistrement semi-continu "in vivo" de la glycémie nycthemerale chez l'enfant normal, l'enfant et l'adolescent diabétique.
Presse médicale 1964 tome 72 2047 - 2052
- 46 COHN (C) BERGER (S) RACHMELEK (B) NORTON (H) BELL (L) ALLWEISS (D) - Plasma insulin response to the size and frequency of normal meals.
25th Ann Meet of amer Diab Assoc (June 1965) Abstract in Diabetes (1965) 14 453
- 47 CONARD (V) FRANCKSON (J R) BASTENIE (P A) KESTENS (J) KOVACS (C) - Etude critique du triangle d'hyperglycémie intraveineux chez l'homme normal et détermination d'un coefficient d'assimilation glucidique.
Arch Internat Pharmacodyn (1953) 93 - 94 277 - 292

- 48 DAVIDSON (P C) - Insulin secretion and glucagon.
Lancet (1965) 2 954
- 49 DE GENNES (J L) WOLF (L M) LAUDAT (P) DECOURT (J) - Etude de la réponse au jeûne
des A GL du sérum dans les obésités.
Ann Endocr Paris (1964) 25 21 - 32
- 50 DE GENNES (J L) SALTIEL (M) - Les maigreurs lipodystrophiques et le diabète
lipoatrophique. In "les maigreurs". Pb actuels Endocr Nutr Expansion,
edit Paris (1965) 9 199 - 232
- 51 DEROT (M) - Comment dose-t-on l'insuline ?
Revue de médecine (1965) 31 - 35
- 52 DEROT (M) et COLL - Les hyperglycémies - Diabètes, maladies de la nutrition.
Flammarion Edit.
- 53 DEROT (M) RATHERY (M) - Sur un cas de diabète sensible à l'insuline de porc.
Le diabète (1960) 8 65 - 68
- 54 DEROT (M) TCHOBRUTKY (G) - Les hypoglycémies spontanées au cours des états
diabétiques confirmés ou potentiels.
Journ. ann. diab. Hôtel Dieu - Flammarion Edit. Paris (1963) 4 197 - 203
- 55 DEROT (M) DOUSSET (A) - L'exploration fonctionnelle de la glyco-régulation
Vie médicale (1963) 44 21 - 40
- 56 DEROT (M) ROSSELIN (G) ASSAN (R) FREYCHET (P) DROUET (J) TCHOBRUTKY (G) -
Dosage radio immunologique des hormones protéiques plasmatiques.
Actualités médicales de l'hôpital Broussais 1 vol Expansion edit Paris
(1965) 195 - 216
- 57 DEROT (M) RATHERY (M) - Du diabète rénal au diabète sucré.
Journées ann diab Hôtel Dieu Flammarion Edit Paris (1966) 7 75 - 89
- 58 DEROT (M) ROSSELIN (G) ASSAN (R) TCHOBRUTKY (G) - Taux plasmatique de l'insuline
et de l'hormone de croissance (H G H) dans deux cas de diabète lipoatro-
phique. Ile Réunion ann assoc Eur étude Diab. Aarhus (1966) résumé n° 50
- 59 DEROT (M) - Diabètes et Maladies de la nutrition
Flammarion 1 vol 77 - 536
- 60 DEROT (M) - Les hypoglycémies
Presse Médicale (1962) 13 629
- 61 ~~DEROT~~ (R) LAURENT (C) MAGDELAINE (M) - Le risque diabétique - Défense et illus-
tration - Presse médicale (1963) 17 2563 - 2566

- 62 DEUIL (R) DAVY (J) DELOUX (G) DUVAL (J) - Variations du taux des acides gras libres du plasma au cours de trois épreuves dynamiques chez les sujets normaux et dans divers types de diabète sucré.
Pathologie et Biologie (1965) 13 1129 - 1139
- 63 DOUSSET (A) - Test de tolérance au glucose
Gazette médicale de France 1960 Tome 67 1523 - 1530
- 64 DOUSSET (A) KALLAL (Z) - Les états prédiabétiques - Essai de classification biochimique. Cahiers R M F (1962) 251
- 65 DUBOIS (R) LOEB (H) - Erreurs congénitales concernant le métabolisme des hydrates de carbone.
Bruxelles - médical (1962) n° 12 373
- 66 FELBER (J P) - ACTH antibodies and their use for a radio immuno - assay for ACTH
Experientia (1963) 12 367
- 67 FELBER (J P) RUEDI (B) EISOLD (A) VANOTTI (A) - Determination of insulin by biological and immunological methods in normal and diabetic subjects.
Diabetics (1963) 12 367
- 68 FELBER (J P) VANOTTI (A) - Effet du taux des acides gras libres (N E F A) plasmatiques sur la glycémie et l'insulinémie
Helv. physiol. Acta (1964) 22 13 - 15
- 69 FLOYD (J C) FAJANS (S S) KNOFF (R F) CONN (J W) - Evidence that insulin release is the mechanism for experimentally induced leucine hypoglycemia in man.
Jour of clin Invest (1963) 42 1714 - 1719
- 70 FROESH (E R) BURGI (H) MULLER (W A) LABHART (A) - Activité insulinaire suppressible et non suppressible dans le sérum. Nature et signification physiologique. Journ ann diab Hôtel Dieu Flammarion edit. Paris (1964) 5 119-123
- 71 FRANCKSON (J R) DOMS (M A) BELLENS (R) CONARD (V) BASTENIE (P A) - Physiologic significance of the intravenous glucose tolerance test.
Metabolism (1962) 11 482 - 500
- 72 GUINEL (P) TOURNIAIRE (J) LEURAT (R) - L'épreuve au tolbutamide intra-veineux
Diabète (1963) 11 70 - 73
- 73 HALES (C N) RANDLE (P J) - Immuno-assay of insulin with antibody precipitate
Biochem. J. (1963) 88 137
- 74 HALES (C N) KENNEDY (G C) - Plasma glucose, non esterified fatty acid and insulin concentration in hypothalamic hyperphagic rats.
Biochem Journ (1964) 90 620 - 623

- 75 HALES (C N) - Plasma insulin in diabetes.
Ciba Found Coll Endocr Cameroun and O'Connor edit (1964) 15 140 - 148
- 76 HALES (C N) WALKER (J B) GARLAND (P B) RANDLE (P J) - Fasting plasma concentrations of insulin, non esterified fatty acids, glycerol and glucose in the early detection of diabetes mellities.
Lancet (1965) 1 65 - 67
- 77 HALES (C N) STEIN (J) STOWERTS (J M) - Abnormal control of the metabolism of non esterified fatty acids in obesity.
In : REIN & FOIE : maladie de la nutrition (1966) 9 387 - 401
- 78 HALPERN (B) BOURDON (G) - L'antigénicité de l'insuline.
Journ Ann de diabétologie Hôtel Dieu (1965) 7 - 15
- 79 JOSLIN (EP) ROOT (M F) WHITE (P) MARBLE (A) - Treatment of diabetes mellitus.
10e edition Lea an Feliger edit Philadelphia (1959) 1 vol 798
- 80 KALDOR (A) POGATSA (G) - The effect of sulfonylureas on hepatic glucose release
Diabetes (1962) 11 suppl 16 - 18
- 81 KARAM (J H) GRODSKY (G M) FORSHAM (P H) - Excessive insulin response to glucose in obese subjects as measured by immuno chemical assay.
Diabetes (1963) 12 197 - 204
- 82 KARAM (J H) GRODSKY (G M) PAULATOS (F C) FORSHAM (P H) - Critical factors in excessive serum insulin response to glucose. Obesity in maturity onset diabetes and growth hormone in acromagaly.
Lancet (1965) 1 286 - 289
- 83 KARAM (J H) GRODSKY (G M) FORSHAM (P H) - The relationship of obesity and growth hormone to serum insulin levels.
Annals of N Y acad sci (1965) 131 374 - 387
- 84 LAPRESLE (C L) GRABAR (P) - Mise en évidence d'une impureté antigénique dans des préparations d'insuline et d'anticorps correspondants dans le sérum de diabétiques traités par l'insuline.
Rev franç et chi Biol. (1957) 2 1025
- 85 LEBOEUF (B) CAHILL (G F) - Studies on rat adipose tissue 'in vitro' VIII.
Effect of preparation of pituitary adreno cortico tropic and growth hormone on glucose metabolism. J Biol Chem (1961) 236 41
- 86 LESTRADET (H) - Le diabète ou les diabètes sucrés ?
Presse médicale (1966) 74 99 - 102
- 87 LESTRADET (H) - Diabètes sucrés.
Encyclopédie médico chirurgicale Nutrition 10 508 A 10 - 10 508 A 50

- 88 LESTRADET (H) - Action du D 860 sur le glycémie dans la glycogénose hépatique. Précision sur le point d'action des sulfamides hypoglycémiantes - Revue Fr. et Clin. et Biol. (1956) 2 768
- 89 LESTRADET (H) CLASS (I) LABRAM (D) et BILLAUD (L) - L'hyperglycémie provoquée par voie buccale. Signification, interprétation et limites physiologiques chez l'enfant apparemment normal. La presse médicale (1963) 71 2497
- 90 LOUBATIERES (A) - Historique du traitement du diabète par les sulfamides hypoglycémiantes et dérivés - Chemiotherapia (1961) 239 - 261
- 91 LOUBATIERES (A) - Phénomène physiologique, enzymatique, biochimique et pharmacologiques impliqués dans l'insulino sécrétion. Pathologie Biologie (1966) 14 566 - 575
- 92 LUBETZKI (J) - Les effets physiologiques de l'insuline. Pathologie - Biologie (1966) 14 583 - 598
- 93 MANCHESTER (K L) RANDLE (P J) YOUNG (F G) - An insulin assay based on the incorporation of labelled glycine into protein of isolated rat diaphragm J endocr 19 259
- 94 MARTIN (D B) RENOLD (A E) DAGENAIS (Y M) - An assay for insulin like activity using rat adipose tissue -Lancet (1958) 2 76
- 95 MANCHESTER (K L) YOUNG (F G) - J. endocr. (1959) 18 381
- 96 MERKLEN (F P) BERTHAUX (P) - Exploration fonctionnelle du pancréas endocrine Revue du praticien (1962) 12 1509 - 1517
- 97 MIROUZE (J) JAFFIOL (CL) SATTINGER (A) - Hypoglycémie provoquée insulinique étude analytique par enregistrement continu - Données nouvelles d'interprétation. Diabète (1963) 11 13
- 98 MIROUZE (J) - Les conséquences endocriniennes de l'hyperinsulinisme - Presse médicale (1961) 69 54 2499 - 2501
- 99 MIROUZE (J) - L'effet somogyi Journées annuelles de diabétologie de l'hôtel Dieu Paris 1962 Ed Med Flammarion Paris 1962
- 100 MIROUZE (J) JAFFIOL (CL) - Les réactions endocriniennes du diabète sucré insuline. La clinique (1963) 58 579 66 - 73
- 101 MIRSKY (A) - The metabolism of insulin. Diabetes (1964) 13 225

- 102 MIRSKY (A) PERISUTTI (G) - Action of acytocin and related peptides on epididimal adipose tissue of the rat.
Endocrinology (1962) 71 158
- 103 PELLEGRINI (G) - L'évaluation de la fonction endocrine du pancréas dans le diabète sucré.
Gazette médicale (1961) 68 561 - 570
- 104 PERRAULT (M) KLOTZ (Boris) - Les médications antidiabétiques
Sem Hop 1965 46 2651 - 2659
- 105 PIGNARD (P) - Les hypoglycémiants de synthèse.
Gazette médicale (1961) 68 661 - 673
- 106 PIGNARD (P) - Insuline : aspects biochimiques.
Pathologie - Biologie (1966) 14 578 - 582
- 107 PIGNARD (P) - L'insuline. Acquisitions biologiques récentes. Journées annuelles de diabétologie de l'Hôtel Dieu, 3e année 1962 5 - 18
- 108 POWER (L) - Etude sur la nature de l'insuline circulante.
Journ de diab Hôtel Dieu (1966) 65 - 66
- 109 RAFAELSEN (O J) - Insulin like activity of human serum determined by glycogen increase of diaphragm after intraperitoneal ingestion into the rat.
Acta physiol scand (1964) 61 323
- 110 RANDLE (P J) MORGAN (H E) - Vitam and Horm (1963) 20 199
- 111 RANDLE (P J) GARLAND (P B) HALES (C V) NEWSHOLME (E A)
Lancet (1963) 1 785
- 112 RANDLE (P J) - Insuline in blood
Ciba symp Coll Endocr (1957) 11
- 113 RATHERY (M) - Les hypoglycémies provoquées
Gaz méd France (1963) 70
- 114 RENOLD (A) - Réaction immunologique à l'injection d'insuline homologue et hétérologue.
Journ ann de diab Hôtel Dieu (1965) 25 - 29
- 115 RENOLD (A E) MARTIN (D B) DAGENAIS (Y M) STEINKE (J) NICKERSON (R J) SHEPS (M C)
Measurement of small quantities of insulin like activity using rat adipose tissue A proposed procedure.
J Clin Invest (1960) 39 1487

- 116 ROSSELIN (G) DROUET (J) - Iodation de l'insuline par la chloramine T. Symposium européen sur le diabète sucré. (1963) Genève (N P)
- 117 ROSSELIN (G) TCHOBRUTSKY (G) ASSAN (R) LELLOUCH (J) DEROT (M) - Etude radio-immunologique de la réaction insuline anticorps anti insuline.
Rev Franç Etud Chi Biol (1965) 10 1045 - 1063
- 118 ROSSELIN (G) TCHOBRUTSKY (G) ASSAN (R) DROUET (J) DEROT (M) - La méthode radio-immunologique de dosage de l'insulinémie.
Med. Hyg (Genève) à paraître
- 119 ROSSELIN (G) - Insulinémie et diabète
Pathologie -Biologie (1966) 14 598 - 608
- 120 SAMAAAN (N) FRASER (R) DEMPSTER (W J) - The typical and atypical forms of serum insulin diabetes (1963) 12 339
- 121 SANGER (F) - Ciba found coll endocr (1956) 9 110
- 122 SANGER (F) - La structure de l'insuline
Bull soc chim biol (Paris) (1955) 37 23 - 35
- 123 SELTZER (H S) SMITH (W J) - Plasma insulin activity after glucose. An index of insulogénic reserve in normal and diabetic man.
Diabetes 1959 8 417
- 124 STERNE (J) - Mecanisme d'action des biguanides antidiabetiques
Presse med (1964) 72 1 - 17 - 19
- 125 TCHOBRUTSKY (G) - Insulino resistance anticorps anti insuline chez l'homme
Pathologie Biologie (1966) 14 620 - 627
- 126 TCHOBRUTSKY (G) ASSAN (R) ROSSELIN (G) DOLAIS (J) DEROT (M) - Les anticorps anti insuline chez l'homme - Etude radio immunologique - Journées annal diab Hôtel Dieu 1965 6e année 1 vol Flammarion edit Paris.
- 127 TCHOBRUTSKY (G) ROSSELIN (G) ASSAN (R) DROUET (J) DEROT (M) - Dosage radio immunologique de l'hormone somatotrope humaine (S T H) par un système à deux anticorps.
Communication à la société de Biologie Médicale le 7 Février 1965
- 128 TREMOLIERES (J) DERACHE (R) - Metabolisme des glucides
Encyclopédie médico chirurgicale (1959)
- 129 UNGER (R H) EISENSTAUT (A M) Mc CALL (M S) TIMM (D L) - Glucagon antibodies - An immuno assay for glucagon.
J. Clin Invest (1961) 40 1280

- 130 UNGER (R H) MADISON (L L) - A new diagnostic procedure for mild diabetes mellitus evaluation of an intravenous tolbutamide response test.
Diabetes (1958) 7 455
- 131 VAGUE (P H) BOEUF (G) LEROY (C) - L'insuline plasmatique
Revue de médecine (1966) 7 391 - 401
- 132 VAGUE (J) FAVIER (G) DELBOY (C) - Diabète infantile récent et non traité apparemment guéri depuis quatre mois par 75 g de 2254 RP en 26 jours.
Diabète (1956) 4 234
- 133 VAGUE CODACCIONI TEITELBAUM GODEFROY et HESMATI - Relation entre le métabolisme glucidique et le comportement alimentaire chez les obèses.
Gazette méd de France (1963) 411
- 134 VAGUE PASTOR GARRIGUES CODACCIONI TEITELBAUM HESMATI et GODEFROY - Etude comparative des épreuves d'hyperglycémie provoquée par voie orale, par voie veineuse et après cortisole.
Le diabète (1963) p 59
- 135 VAGUE (P H) - Thèse insulémie et diabète.
- 136 VAGUE (J) CODACCIONI (J L) VAGUE (P H) - Quelles sont les modalités de l'hyperinsulinémie prédiabétique ?
Journées annuelles de diabétologie de l'Hôtel Dieu 1 vol Edition Flammarion (1964) 123 - 138
- 137 VAGUE (J) - De la surcharge adipeuse au diabète commun de l'adulte.
Presse médicale (1957) 65 637 - 639
- 138 VAGUE (J) CODACCIONI (J L) COULOMB (J) TEITELBAUM (M) MATHIS (G) et FROMENT (G) - Influence de la cure d'amaigrissement sur l'évolution du diabète - relations avec les antécédents familiaux, le degré de surcharge pondérale et la répartition grasseuse.
Diabète (1962) 10 117 - 124
- 139 VALLANCE -OWEN (J) HURLACK (B) PLEASE (M W) - Plasma insulin activity in diabetes mellitus
Lancet (1955) 2 583
- 140 VALLANCE -OWEN (J) - Synalbumin insulin antagonism
Diabetes (1964) 13 241
- 141 VALLANCE -OWEN (J) WRIGHT (P H) - Assay of insulin in blood
Physio Rev (1960) 40 219

- 142 VANOTTI (A) FELBER (J P) - Méthodes de dosage de l'insulinémie et leur valeur pratique.
Journées annuelles de diabétologie Hôtel Dieu (1965) 1 vol Flammarion 61-66
- 143 WARGON (H) - Insuline et métabolisme lipidique
Pathologie - Biologie (1966) 14 591 - 597
- 144 YALOW (R S) BERSON (S A) - Immuno assay of endogenous plasma insulin in man
J Clin Invest (1960) 39 1157
- 145 YALOW (R S) GLICK (S M) ROTH (J) BERSON (S A) - Radio immuno assay of human plasma A C T H
J Cli Endocr (1964) 24 1219
- 146 YALOW (R S) BERSON (S A) - Assay of plasma insulin in human subjects by immunological method.
Nature (Lond) (1959) 184 1648
- 147 YALOW (RS) BERSON (S A) - Immunologic aspects of insulin
Amer J med (A 96I) 31 882
- 148 YALOW (R S) BERSON (S A) - Immuno assay of endogenous parathyroid hormone
2e congrès d'endocrinologie Londres (1964) 2e vol Excerpta Med ed Amsterdam
- 149 YOUNG (F G) - Insulin and insulin antagonism
Endocrinology (1963) 73 654

